

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf - M'sila

Faculté des Sciences

Département de Microbiologie et de Biochimie

N° :



Domaine : Sciences de nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par:

BRINIS Nassira

LAOUEDJ Hayet

SADJI Nor el Houda

Intitulé

La transfection chez les eucaryotes

Soutenu devant le jury composé de :

Dr.....

Université de M'sila

Président(e)

Dr.AriechMounira

Université de M'sila

Rapporteur

Dr.

Université de M'sila

Examineur/ Examinatrice

Année universitaire : 2021 /2022



Remerciements

Dieu le tout puissant, Merci de nous avoir donné le courage, la force, la patience et la détermination d'accomplir ce modeste travail.

Notre Encadrant, **Dr. ARIECH**

Nous vous remercions d'avoir dirigé et veillé au bon déroulement de notre mémoire. Il fut un grand plaisir de travailler sous vos directives. Nous vous exprimons nos gratitude et nos reconnaissances à travers ce travail pour l'attention, la patience et de l'implication dont vous avez fait preuve, merci pour tous les conseils dont nous avons pu bénéficier.

Nos remerciements s'adressent

Aux membres du jury **Dr.....**(Président), **Dr.ARIECH**(Rapporteur), **Dr.....**(Examineur). Merci de nous faire honorer en faisant parti de ce jury.



Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents MOHAMMED & SOUHILA BAYA, je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour les conseils, le soutien, les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagnés tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, que mieux que des mots, ils traduisent tout l'amour que je ressens pour vous.

A ma chère sœur : ABIR

A mes chers frères: YUCEF & SEIF

A toutes mes deux familles BRINIS & BELAID

A mes meilleurs copines: NOR ELHOUDA, HAYET, HOUDA & LILA

*A tous mes collègues qui ont étudié avec moi de primaire jusqu'à l'université,
& la promotion de microbiologie appliquée 2022*

A toutes personnes que je l'aime.

NASSIRA





Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents MUSTAPHA & HALIMA MAGOURA, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières qui m'ont accompagnés tout au long de mes études.

A ma chère sœur NARIMAN pour son encouragement permanent, et son soutien moral

A mon cher frère AMINE son appui et son encouragement

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible

Et

A mes meilleurs amies: HAYET, NASSIRA & NOR

A tous mes camarades qui ont étudié avec moi de primaire jusqu'à l'université,

& la promotion de microbiologie appliquée 2022

A toutes personnes que j'aime.

Merci d'être toujours là pour moi

HOUDA.S



Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents ZOUBIR&SAIDA, je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour les conseils, le soutien, les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagnés tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, que mieux que des mots, ils traduisent tout l'amour que je ressens pour vous.

A ma chère sœur : SAMIHA

A mon chère frère : MOHAMED

A toutes mes deux familles LAOUEDJ&TOUIMER

A mes meilleurs copines: NOR ELHOUDA, FATI &NASSIRA

Et A mon fiancé YACOUB

*A tous mes collègues qui ont étudié avec moi de primaire jusqu'à l'université,
&la promotion de microbiologie appliquée 2022*

A toutes personnes que je l'aime.

HAYET



SOMMAIRE

Liste des figures	I
Liste de tableaux	I
Listes des abréviations	II
Résumer	III
Abstract	IV
ملخص	V
Introduction	1

CHAPITRE I. Généralités sur les eucaryotes

I.1. Définition des eucaryotes	2
I.2. Origines des eucaryotes (théories)	3
I.2.1. Origine indépendante	4
I.2.2. Simplification et ou amplification	5
I.2.3. Théories de fusions et d'endosymbiose	5
I.3. Différence entre la cellule eucaryote et procaryote	5
I.4. Classification des eucaryotes	8
I.4.1. Classification classique	8
I.4.2. Classification phylogénétique	9
I.4.3. Classification évolutionniste	10
I.5. Interaction entre espèces dans les écosystèmes	10

CHAPITRE II. La transfection chez les eucaryotes

II.1. Définition	13
II.2. Moyens et objectifs	13
II.3. Principe	16
II.4. Processus de transfection d'ADN	18
II.5. Processus de transfection d'ARNm	19

II.6. Avantages de la transfection d'ARNm.....	21
II.7. Transfection a médiation chimique	21
Conclusion	23
Références bibliographiques	i

Liste des figures

Figure 1. Cellule eucaryote animale	2
Figure 2. Cellule eucaryote végétale	2
Figure 3. Arbre phylogénétique non raciné des trois domaines.	3
Figure 4. Grands groupes de théories de l'origine des eucaryotes	4
Figure 5. Structure de la cellule procaryote.....	6
Figure 6. Structure de la cellule eucaryote	7
Figure 7. Arbre phylogénétique des eucaryotes	10
Figure 8. Modification génétique observable sur les chromosomes causé par la transfection	15
Figure 9. Représentation schématique de la méthode Lipofection	16
Figure 10. Exposition de culture à l'agent de transfection	17
Figure 11. Représentation schématique de la méthode Lipofection	19
Figure 12. Schéma présentant le mode d'action et de régulation de la transfection au niveau d'une cellule eucaryote	20

Liste des tableaux

Tableau 1. Comparaison entre les cellules eucaryotes et les cellules procaryotes	8
---	---

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNi : Acide ribonucléique interférent

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARNsi : Acide ribonucléique interférent

CRISPR/Cas9 :Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

DEAE :Diéthyl amino éthyle

IgG : Immunoglobuline de type G

HEK293 :human embryonic kidney 293

Cho :Chinese hamster ovary

LUCA :Last Universal Common Ancestor

Résumé

La transfection est une technique de biologie moléculaire qui consiste l'introduction artificielle d'acides nucléiques (ADN ou ARN) dans des cellules eucaryotes cultivées in vitro. Chez les bactéries, on parle plutôt de transformation que de transfection. Une transfection peut être stable (le matériel génétique s'insère dans le génome) ou transitoire. L'objectif principal de la transfection est d'étudier la fonction des gènes ou des produits géniques, en améliorant ou en inhibant l'expression de gènes spécifiques dans les cellules, et de produire des protéines recombinantes dans des cellules de mammifères.

Mot clé : ADN, Cellule eucaryote, Gène, Transfection

ملخص

تعد تقنية ترانسفكأيشن إحدى تقنيات البيولوجيا الجزيئية التي تتكون من الإدخال الاصطناعي للأحماض النووية (DNA) أو RNA في الخلايا حقيقية النواة المستزرعة في المختبر. في البكتيريا ، نتحدث عن التحول بدلاً من تعداد العدو

يمكن أن يكون تعداد العدو مستقرًا (يتم إدخال المادة الوراثية في الجينوم) أو عابرًا. الغرض الرئيسي من تعداد هو دراسة وظيفة الجينات أو المنتجات الجينية ، عن طريق تعزيز أو تثبيط التعبير عن جينات معينة في الخلايا ، وإنتاج البروتينات المؤتلفة في خلايا الثديين .

كلمات مفتاحية : الأحماض النووية, خلايا حقيقية النواة, مادة وراثية,

Abstract

Transfection is a molecular biology technique which consists of the artificial introduction of nucleic acids (DNA or RNA) into eukaryotic cells cultured in vitro. In bacteria, we speak of transformation rather than transfection. A transfection can be stable (the genetic material is inserted into the genome) or transient. (Futura Health website). The main purpose of transfection is to study the function of genes or gene products, by enhancing or inhibiting the expression of specific genes in cells, and to produce recombinant proteins in mammalian cells. (Bockamp, E. et al. (20.

Key words : DNA , eukaryotic cells , Gene , Transfection .

L'être vivant est un organisme qui est doté de la vie, tous les êtres vivants se composent d'une ou plusieurs cellules, qui sont la base du monde vivant et qui fonctionnent d'une manière autonome.

Les chercheurs ont classé les êtres vivants en deux grandes groupes : Eucaryotes et Procaryotes. Cette classification basée sur la présence d'un noyau, plus précisément une membrane nucléaire autour du matériel génétique dans la cellule d'où vient le nom eucaryote qui signifie "Vrai noyau". Les eucaryotes regroupent des organismes unicellulaires ou pluricellulaires qui sont caractérisés par la présence d'un noyau et des organites spécialisés. **(Silar, 2016).**

Le fonctionnement des cellules eucaryotes est exprimé à partir du matériel génétique (ADN), on peut modifier cette expression en modifiant les séquences génomiques par plusieurs techniques : chimique, physique ou biologique qui résume le terme : La transfection. En bref la transfection est une technique de transfert des gènes par l'introduction d'un ADN étranger dans les cellules eucaryotiques *in vitro*. La transfection peut être stable ou transitoire **(Ibidi, 2021).**

Ce travail a été réalisé pour bien comprendre la transfection chez les eucaryotes, il est divisé en deux chapitres :

Chapitre 1, Généralités sur les eucaryotes, qui résume tout ce qui concerne les eucaryotes (définition, classification, origines, les relations entre les organismes et enfin rôle et importance dans l'environnement.

Chapitre 2, Transfection, en parlant sur le principe et les techniques utilisées.

Chapitre I : Généralités sur les eucaryotes

I.1. Définition des eucaryotes

Le mot eucaryote veut dire « Vrai noyau ». Donc la cellule eucaryote est une cellule qui possède un vrai noyau limité par l'enveloppe nucléaire, et qui contient le matériel génétique sous forme d'ADN. Elle est limitée par une membrane plasmique ou membrane cellulaire qui la sépare du milieu extérieur, et qui limite le cytoplasme qui est hautement structuré contenant de nombreux organites spécifiques (Mitochondrie, R.E., L'A.G., Lysosomes, Peroxysomes, Chloroplastes et Vacuoles). Toutes les fonctions cellulaires sont en effet compartimentées et réalisées par des structures spécialisées entourées chacune d'une membrane. Parmi les eucaryotes, il y a les cellules animales (**figure1**) et végétales (**figures2**). (Larousse. Encyclopédie divers)

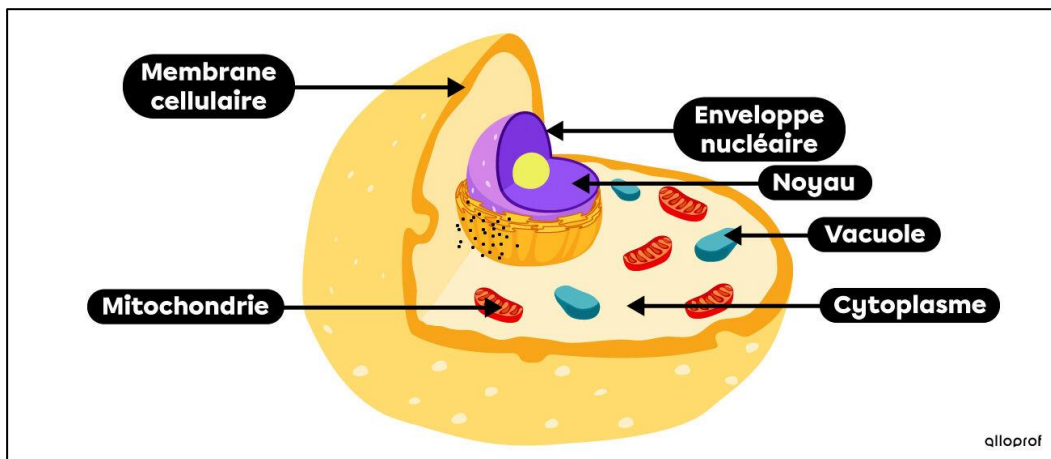


Figure 1. Cellule eucaryote animale (alloprof.qc.ca)

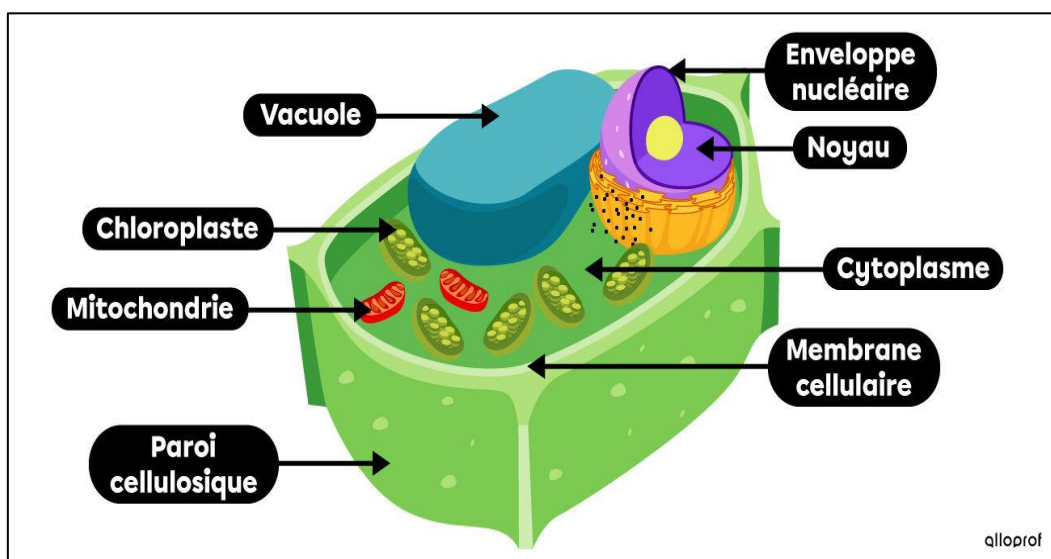


Figure 2 : Cellule eucaryote végétale (alloprof.qc.ca)

I.2. Origine des cellules eucaryotes

L'origine des cellules eucaryotes considérées comme un point très important de la biologie évolutive, pour lequel de nombreuses hypothèses différentes a été proposées pour expliquer l'apparition des cellules eucaryotes.

Premièrement ils ont fait des analyses sur la séquence des génomes par la technique de séquençage d'ADN. Cette analyse est appliquée sur le génome nucléaire du maïs et spécifiquement sur leurs génomes mitochondriaux ou chloroplastiques et déterminer qu'ils existent trois lignées intriquées structurellement et fonctionnellement qui sont : les archées, les eucaryotes, les bactéries (**Figures3**). (**Joyard et selosse, 2021**).

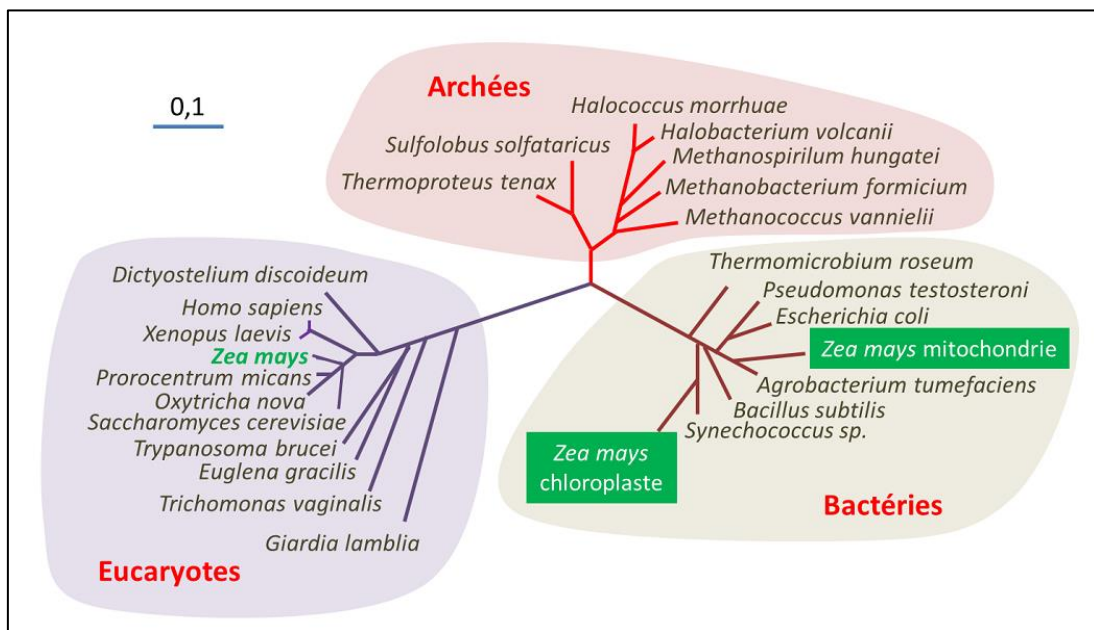


Figure 3. Arbre phylogénétique non raciné des trois domaines. (**Joyard et selosse, 2021**).

Ces analyses donc montrent que l'origine de leurs génomes qui ont pu apparaître au cours de l'évolution de la cellule eucaryote. Il se pose donc deux questions :

- Quel est le rapport entre les bactéries, les archées et les cellules eucaryotes ?
- Comment sont apparus les attributs caractéristiques des cellules eucaryotes ?

Les réponses à ces questions est encore inconnue aujourd'hui et leurs apparitions est encore mystérieuse. Mais il existe quelques théories qui expliquent le rapport entre les bactéries, les archées et les eucaryotes, et comment sont apparues. On peut classer ces théories en trois groupes ; chacun explique une partie de l'histoire (**figure 4**).

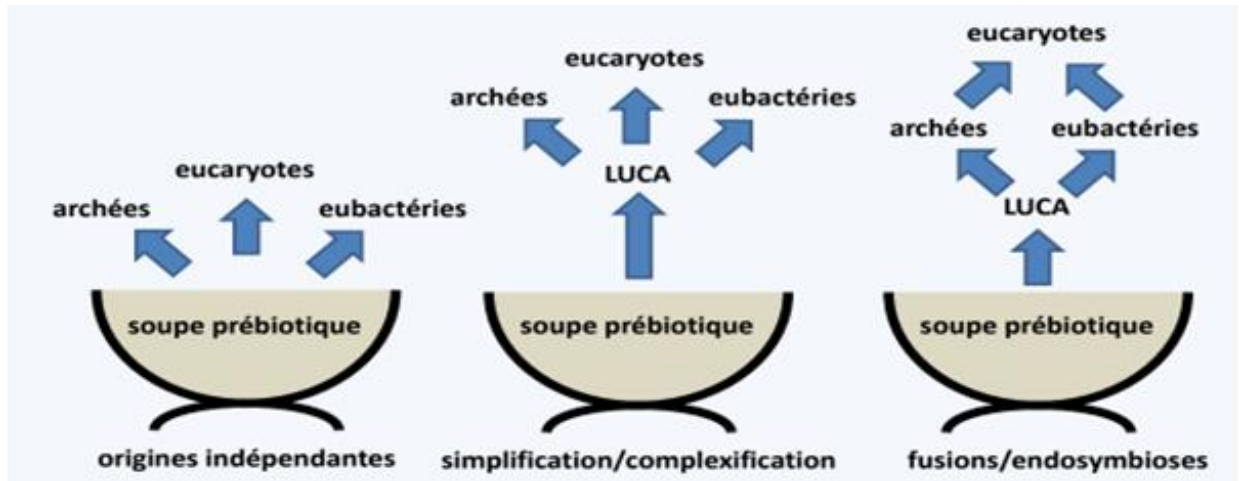


Figure 4. Grands groupes de théories pour expliquer l'origine des eucaryotes. (Silar, 2021).

La première théorie, celle qui suppose que les trois groupes d'êtres vivants ont une origine indépendante, la deuxième dite que les procaryotes et les eucaryotes dérivent d'un ancêtre commun, le Last Universal Common Ancestor ou LUCA principalement par simplification pour les procaryotes, LUCA ayant éventuellement pu être un proto-eucaryote, et par principalement complexification pour les eucaryotes et la troisième théorie suppose que les eucaryotes dérivent des procaryotes par des mécanismes de fusion et/ou d'endosymbiose.

I.2.1. Origines indépendante (théorie 1)

Cette théorie est basée sur le fait que la différence entre les archées, les eucaryotes et les bactéries sont trop profondes, ce qui montre que leur origine est indépendante. En effet, largement le plus fort de cette théorie présente dans la différence de la composition lipidique de leur membrane mais il est plus admissible. Car chez les Planctomycetales (eubactéries), les gènes de synthèses de lipides à liaison éther typiques des archaebactéries et des stérols typiques des eucaryotes sont présents et ont été probablement acquis par transfert horizontal. Ceci montre qu'un remplacement de gènes par d'autres au cours de l'évolution peut expliquer les compositions particulières des membranes propres à chaque groupe. Donc cette théorie n'explique pas vraiment l'origine des cellules eucaryotes. (Silar, 2021).

I.2.2. Simplification et ou complexification (théorie 2)

Récemment, plusieurs chercheurs ont refusé les méthodes d'établissement des phylogénies qui proposent que les bactéries et les archaebactéries sont les organismes primitifs. Par contre, ils ont suggéré que les bactéries, les procaryotes et les eucaryotes dérivent d'un ancêtre commun complexe (LUCA), avec cette théorie, les procaryotes seraient issus d'une cellule proto-eucaryote par simplification via la sélection de mécanismes efficaces et rapides et les cellules eucaryotes par complexification. Mais malheureusement ce type d'hypothèse n'explique pas l'origine ou comment apparut LUCA de façon convaincante et surtout les étapes de son évolution vers les eucaryotes. (Silar, 2021).

I.2.3. Les théories de fusion et d'endosymbiose

La première formulation de cette théorie a été remontée au début de XXe siècle par le biologiste russe Konstantin Mereschkowski (1855_1927). Ils ont remarqué que l'origine d'apparition des mitochondries et les plastides c'était l'événement d'endosymbiose, et qu'ils existent encore aujourd'hui des endosymbioses intracellulaires mutualistes et parasitaires. En plus, les gènes des organismes primitifs sont encore détectables dans le génome actuel des eucaryotes. Néanmoins, certains chercheurs n'ont pas convaincu et suggèrent que les gènes auraient pu être acquis au cours de l'évolution, via des transferts interspécifiques ou via l'alimentation. (Silar, 2021).

I.3. Différence entre la cellule eucaryote et procaryote

En 1962, le monde cellulaire a été divisé en deux grands ensembles par R.Y. Stainer (1916_1982) et C.B. Van Niel (1897_1985) : les procaryotes et les eucaryotes. Après ils ont abouti à la division des procaryotes en deux autres lignées : les eubactéries et les archées. Qui se différencient au niveau de leur structure et leur fonctionnement. Donc le monde vivant est divisé alors en eubactéries, archées et eucaryotes. Chacun de ces trois lignées ont des caractéristiques spécifiques mais aussi quelques caractéristiques sont communes entre eux. Néanmoins, les cellules eucaryotes sont plus complexes que les cellules des eubactéries et des archées. Ce qui compte n'a cité que deux caractéristiques entre les procaryotes et les eucaryotes. (Silar, 2021).

La cellule procaryote c'est une cellule de petite taille et de structure simple caractérisée par l'absence de noyau, elle possède un ADN circulaire ou linéaire libre dans le cytoplasme entouré par une membrane renforcée par une paroi ou peuvent s'ancrer des flagelles et des pili. Dans le cytoplasme, il y a de nombreux ribosomes, une masse plus claire et le nucléole

qui contient l'ADN. Donc la réplication, la transcription et la traduction de l'ADN se fait directement dans le cytoplasme. Les procaryotes sont identifiés généralement aux bactéries, ils se distinguent par deux types de bactéries Gram positif (G+) et Gram négatif (G-) selon leurs parois cellulaires par la mise en évidence de la coloration de Gram. Les bactéries à G+ retiennent la couleur violette par ce que leurs parois possèdent une couche de peptidoglycane qui se repose sur la membrane plasmique. Par contre les bactéries à G- sont beaucoup plus perméables au colorant, ils retiennent la couleur rose clair par ce que leur paroi constitue une couche fine de peptidoglycane qui se repose sur la membrane plasmique (**figure5**). (Silar, 2021)

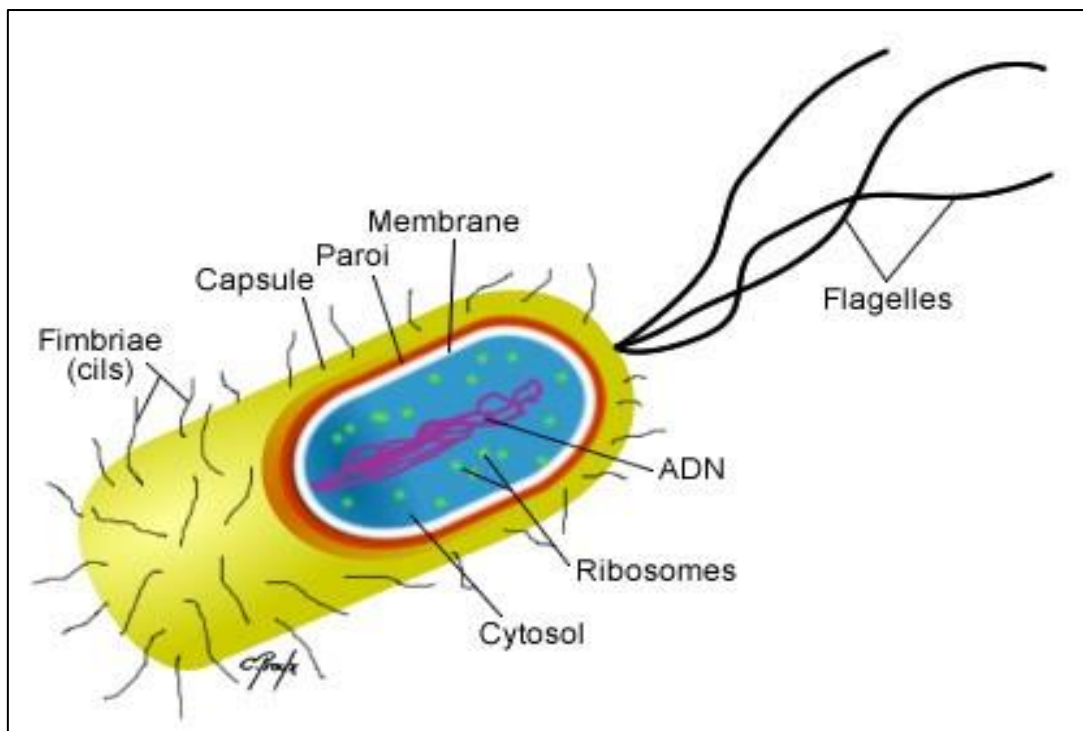


Figure 5. Structure de la cellule procaryote (**Site cours pharmacie**)

La cellule eucaryote c'est une cellule de taille importante et de structure complexe caractérisée par la présence de leur noyau, possède un vrai cytosquelette et un système de membrane interne délimitant de nombreux organites : noyau, réticulum endoplasmique, appareil de golgi, endosomes précoces, endosomes tardifs ou corps multi vésiculaires, corps d'inclusion et mitochondries. La membrane plasmique renforce par une paroi qui lui permet de résister contre les agressions extérieures et aussi lui donner une forme bien définie (**figure6**) (Silar, 2021).

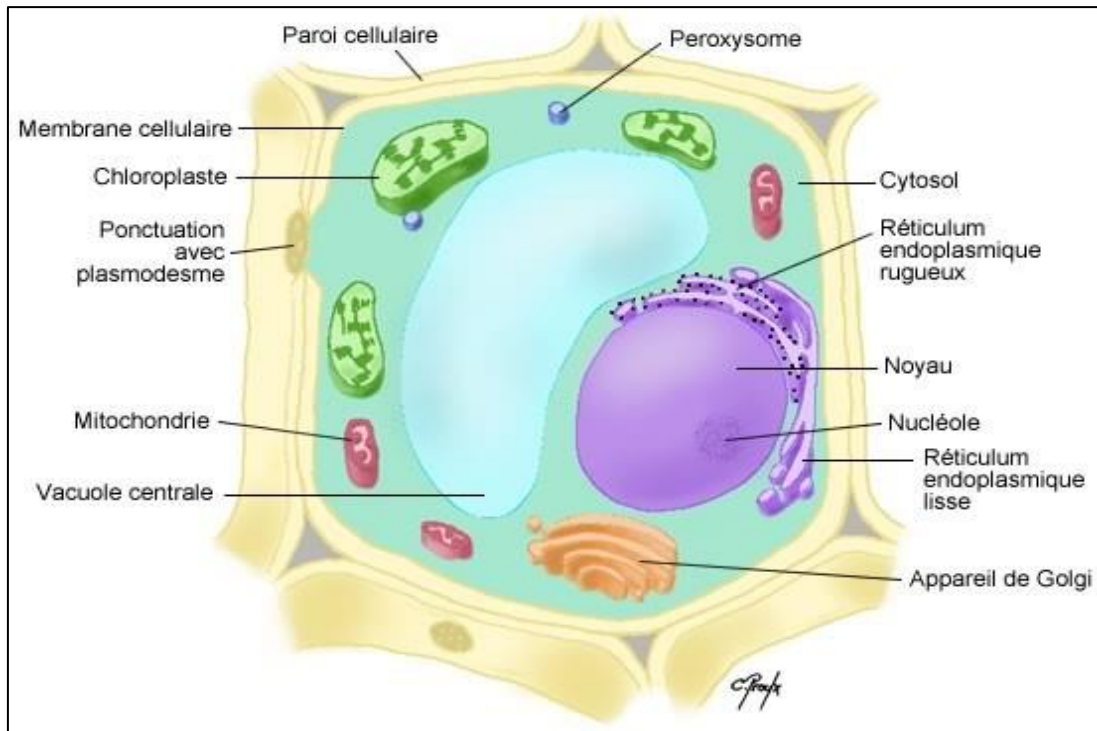


Figure 6 : La structure de la cellule eucaryote.(Site cours pharmacie)

Les cellules eucaryotes et procaryotes ont plus de ressemblances que de différences et les données scientifiques actuelles démontrent que toutes les cellules sont reliées par l'évolution. Malgré des différences significatives quant à leur spécificité, ces différences sont mineures par rapport à l'ensemble des traits communs et on peut maintenant faire une petite comparaison entre la cellule eucaryote et la cellule procaryote dans le tableau 1.

Tableau 1 : Comparaison entre les cellules eucaryotes et les cellules procaryotes (**Site Evolution biologique.**).

Caractéristiques	Procaryotes	eucaryotes
Organisme	Bactéries	Protiste, champignons, plantes, animaux
Présence d'un noyau	Non	Oui
Taille des cellules	Généralement plus petite que les eucaryotes (entre 1 – 10 μm)	Généralement plus grandes que les procaryotes (entre 5 – 100 μm)
ADN	Généralement un seul chromosome de forme circulaire	Généralement plus d'un chromosome, linière
Localisation d'ADN	Peu organisé (absence de noyau)	Associé aux histones (chromatine) dans le noyau
Organites	Absent (ou peu)	Présents (mitochondries, appareils de golgi, réticulum endoplasmique...ect)
ARN et protéines	Transcription de l'ADN et traduction simultanées et au même endroit	Transcription de l'ADN et traduction séparées dans le temps et l'espace
Introns	Peu ou pas	Présent
Organisation cellulaire	Surtout unicellulaire Différenciation simple (spores par exemple)	Surtout pluricellulaire différenciation cellulaire complexe

I.4. Classification des eucaryotes

La diversité des eucaryotes adopte une très grande variété, on distingue d'abord les eucaryotes supérieures (les animaux et les plantes) et les eucaryotes inférieures (les protozoaires, les algues et les champignons) ; ce qui nécessite de les regrouper. En effet le chercheur CARL VON LINEE a proposé un système de classification qui regroupe les organismes par des niveaux du plus large au plus restreint car il met en valeur les relations évolutives et bien comprendre le monde vivant. Cette classification a évolué au cours du temps en plusieurs niveaux : classification classique, classification phylogénétique et classification évolutionniste.

I.4.1. La classification classique

La classification classique a été établie par Aristote dès le 4^{ème} siècle et a persisté jusqu'au 19^{ème} siècle, cela était basé sur l'observation à l'œil nue des organismes et facile à utiliser dans le langage commun, elle a rangé les organismes en 2 règnes animal et végétal,

le règne animal caractérisé par la réaction des organismes lorsqu'ils sont touchés, par contre le règne végétal lesquels sont touchés ne montaient aucune réaction mais capable de croître rapidement, cette classification devient une problématique car il y a des exceptions ou il existe des végétaux à caractéristiques animales et aussi des animaux à caractéristiques végétales par exemple des végétaux carnivores se rétractent au toucher et d'autres animaux dépourvus de réaction comme les éponges. Progressivement au début de 20^{ème} siècle ils ont fait d'autres classifications plus complètes et correctes prévenant la forme, la motilité des organismes, les stratégies trophiques et la modalité d'alimentation des organismes. En effet dans les années 1960 ils ont fait une nouvelle classification de 5 règnes par Robert Whittier (1920_1980) : les animaux, les végétaux, les champignons, les protistes et les archées. Cette classification classique repose sur une hiérarchie fixe de catégories définie de la façon suivante : RECOFGE, ces lettres permettent de retrouver respectivement :

R : Règne, E : Embranchement, C : Classe, O : Ordre, F : Famille, G : Genre et E : Espèce (Silar, 2021).

I.4.2. Classification phylogénétique

De plus en plus la classification classique est remplacée par la classification phylogénétique à cause de sa précision à définir les relations de parenté entre les organismes et a eu beaucoup de succès et effectivement permis d'obtenir une classification bien que les précédentes, elle est basée sur la collection des êtres vivants qui issus d'un ancêtre commun par l'étude des séquences des gènes et des protéines, plus les séquences sont proches plus les organismes sont proches. Cependant l'utilisation des séquences courtes a conduit à des erreurs de précision. Dans ce cas il en dépend à des calculs spécifiques. Actuellement ils ont utilisé des séquences de plusieurs gènes importants ou même de génomes complets. Néanmoins cette méthode ne résout pas tous les problèmes de classification. En particulier lorsqu'une radiation évolutive rapide est produite et/ou les groupes ont divergé depuis très longtemps, ce qui est le cas pour les eucaryotes, le signal phylogénétique est souvent trop faible et les relations entre les différentes lignées sont alors impossible à établir sur la seule base des séquences. Donc il est possible de définir des traces indiquant une relation de parenté. Actuellement la classification phylogénétique regroupe les eucaryotes en 6 lignées monophylétiques : Opisthokonta, Amoebozoa, Archaeplastida, Heterokonta, Alveolata et Rhizaria. (Silar, 2021).

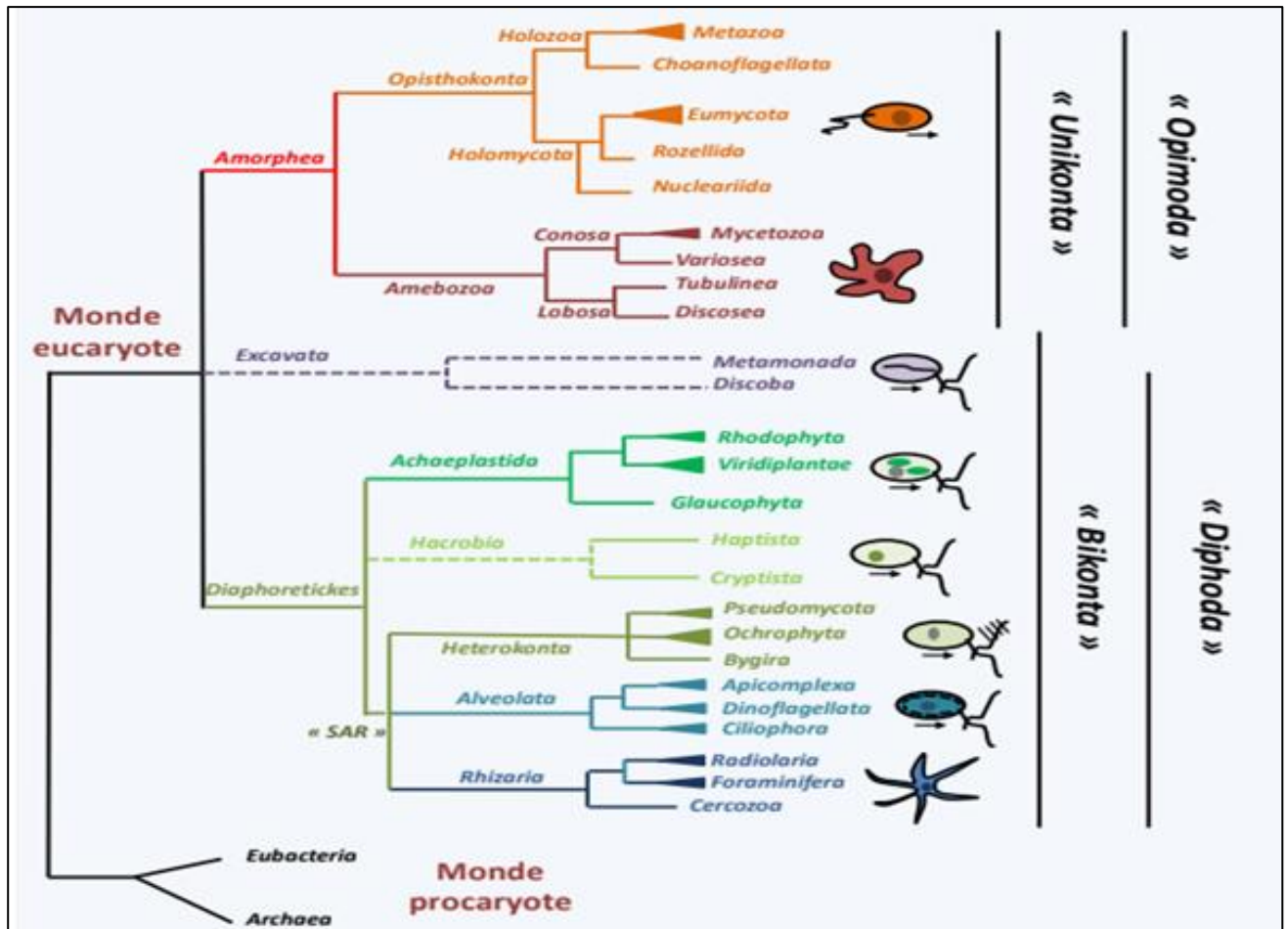


Figure 7. Arbre phylogénétique des eucaryotes.(Silar, 2021).

I.4.3. Classification évolutionniste

La classification évolutionniste dite aussi évolutive, éclectique ou synthétiste. En biologie le terme évolutionnisme est utilisé pour désigner l'ensemble des théories de l'évolution en expliquant la transformation des espèces au cours du temps, elle est considérée comme une école de systématique et de taxonomie qui peuvent la suivre. La classification évolutionniste est représentée par un arbre phylogénétique (phylogramme).

I.5. Interactions entre espèces dans les écosystèmes

La biodiversité concerne ensemble variée des êtres vivants et leurs interactions entre eux et avec le milieu ou ils vivent .les interactions qui existent entre les organismes d'un même écosystème sont bénéfiques et essentiel dans la physiologie et l'adaptation des organismes ,par exemple les animaux ne peut pas digérer a l'absence de certain types de bactéries qui se trouve dans le tube digestive ,et aussi les plantes ne peuvent pas s'exploiter qua laide des champignons qui colonisent dans leurs racines (symbiose mycorrhizienne) .Néanmoins les interactions ne sont pas toujours bénéfiques , elles peuvent être néfaste ou

neutre pour un des deux partenaires ou les deux. Ils existent plusieurs types de telles relations, dont les principales sont :

- symbiose : c'est une relation écologique durable et obligatoire entre des espèces différentes. Cette relation implique tout ou partie de cycle de vie quels que soient des échanges ou protection. Par exemple, L'orchidée *Ophrys sphegodes* synthétise la phéromone femelle de l'abeille et conduit les mâles de l'insecte à des simulacres de copulation avec la fleur. Ce stratagème a pour but essentiel la transmission du pollen d'une orchidée à l'autre, c'est-à-dire sa reproduction, mais également son extension à de nouveaux territoires. Le bénéfice de la relation est réciproque pour les deux espèces et la disparition de l'une peut entraîner, à plus ou moins long terme, la mort de l'autre. **(Brodeur et al., 2007)**
- Mutualisme : c'est une association bénéfique entre deux individus de la même espèce ou différentes, obligatoire ou facultative de forme symbiose, elle est très répandue dans le règne animal. Par exemple, Le rat gris, qui consomme les ordures et participe ainsi à l'entretien des égouts, entretient une relation mutualiste avec l'homme. Le héron pic bœuf qui trouve sa nourriture en débarrassant les grands mammifères (buffle, girafes...) de leurs parasites. **(Langley, L. 2020)**
- Commensalisme : c'est une interaction entre les êtres vivants où l'un des partenaires retire un bénéfice de l'association tandis que l'autre ne trouve ni avantage ni inconvénient. Par exemple, Certains poissons séjournent dans le tube digestif d'holothuries dans lequel ils peuvent aller et venir. Certains crabes sont commensaux des moules. Certaines sociétés de coléoptères cohabitent avec les fourmis. La blatte, le moineau, le pigeon, le goéland argenté et d'autres animaux sauvages (ou revenus à la vie sauvage, tels les chats haret) vivant auprès des humains sont des *commensaux* de ceux-ci.
- Parasitisme : association entre deux êtres vivants, mise en jeu de système hôte-parasite. Le parasite se nourrit aux dépens de l'hôte qui représente sa table et sa maison. Par exemple, Les parasites sont innombrables; le ver *Paragordius tricuspidatus*, impressionnant parasite du grillon des bois commun *Nemobius sylvestris* qui pousse ce dernier à se jeter dans les cours d'eau avant de le quitter pour continuer sa propre évolution et se reproduire. Aussi la tique et les mammifères tels que le hérisson.
- Compétition : c'est une relation entre des individus de la même espèce (intra spécifique) ou différentes (interspécifique) dans laquelle ils sont luttés pour une source limitée de croissance, reproduction ou pour la survie. Par exemple le parasitisme de ponte chez les oiseaux est le plus souvent reconnu comme un des meilleurs exemples de processus coévolutifs.

Chapitre I. Généralités sur les eucaryotes

- Neutralisme : c'est une interaction biologique où la présence de différentes espèces dans la même zone ne crée aucune prestation ou blessures. par exemple : le cas de la musaraigne et du cerf dans une forêt. (**Joyard et selosse 2021**).

Chapitre II : Transfection chez les eucaryotes

II.1. Définition

La transfection est le processus d'introduction artificielle d'acides nucléiques (ADN ou ARN) dans des cellules, en utilisant des moyens autres que l'infection virale. De telles introductions d'acide nucléique étranger utilisant diverses méthodes chimiques, biologiques ou physiques peuvent entraîner une modification des propriétés de la cellule, permettant l'étude de la fonction des gènes et de l'expression des protéines dans le contexte de la cellule. Lors de la transfection, l'acide nucléique introduit peut exister dans les cellules de manière transitoire, de sorte qu'il n'est exprimé que pendant une période de temps limitée et ne se réplique pas, ou il peut être stable et s'intégrer dans le génome du receveur, se répliquant lorsque le génome de l'hôte réplique.

La transfection surmonte le défi inhérent à l'introduction de molécules chargées négativement (par exemple, des squelettes phosphatés d'ADN et d'ARN) dans des cellules avec une membrane chargée négativement. Des produits chimiques comme le phosphate de calcium et le diéthylaminoéthyl (DEAE) -dextran ou des réactifs à base de lipides cationiques recouvrent l'ADN, neutralisant ou même conférant une charge positive globale à la molécule. Ce processus facilite la traversée de la membrane par le complexe ADN : réactif de transfection, en particulier pour les lipides qui ont un composant « fusogène », ce qui améliore la fusion avec la bicouche lipidique. Les méthodes physiques telles que la micro-injection ou l'électroporation perforent simplement la membrane et introduisent l'ADN directement dans le cytoplasme. Chacune de ces technologies de transfection est discutée dans les sections suivantes. **(Ding, X. et al. (2017)Graham, FL et van der Eb, AJ (1973)**

II.2. Moyens et objectifs

Le choix de la technique de transfection décider si vous avez besoin d'une transitoire ou stable dépend du laps de temps et du but ultime de l'expérience que vous souhaitez mener.

Les cellules transfectées de manière transitoire sont généralement récoltées 24 à 96 heures après la transfection et sont souvent utilisées pour étudier les effets de l'expression à court terme de gènes ou de produits géniques, effectuer un silençage génique médié par l'interférence ARN (ARNi) afin de produire rapidement des protéines recombinantes sur une petite échelle. La transfection transitoire avec de l'ARNm peut fournir des résultats encore plus rapides ; parce que l'ARNm est exprimé dans le cytosol sans nécessiter de translocation

vers le noyau et en évitant le processus de transcription, il est possible que l'ARNm transfecté soit exprimé quelques minutes après la transfection dans certains systèmes.

En revanche, la transfection stable est plus utile lorsque l'expression génétique à long terme est requise ou lorsque les cellules transfectées doivent être utilisées dans de nombreuses expériences. Étant donné que l'intégration d'un vecteur d'ADN dans le chromosome est un événement rare, la transfection stable de cellules est un processus plus laborieux et difficile, qui nécessite un dépistage sélectif et un isolement clonal. En tant que tel, il est normalement réservé à la production de protéines à grande échelle, aux études pharmacologiques à plus long terme, à la thérapie génique ou à la recherche sur les mécanismes de régulation génétique à long terme.

Bien que la transfection transitoire de cellules de mammifères ait été utilisée pour la production de protéines recombinantes avec des modifications de repliement et post-traductionnelles appropriées (qui ne sont pas disponibles lors de l'expression de protéines recombinantes dans des cellules bactériennes) depuis l'invention des réactifs de transfection, la capacité d'exprimer des milligrammes à -grammes de protéines recombinantes repose principalement sur la création de lignées cellulaires stables. Plus récemment, la transfection transitoire à grand volume de cellules HEK293 et CHO adaptées à la culture en suspension a répondu au besoin d'obtenir de grandes quantités de protéines recombinantes sans avoir à recourir au processus laborieux de développement de lignées cellulaires stables. L'expression de protéines recombinantes par transfection transitoire permet aux chercheurs de produire, à partir du vecteur d'intérêt et de cellules CHO ou HEK293 adaptées à la suspension,

Une avancée majeure dans la technologie d'expression transitoire pour la production rapide et à très haut rendement de protéines dans les cellules de mammifères est le système d'expression Expi293, qui est basé sur la culture à haute densité de cellules Expi293F dans le milieu d'expression Expi293 et la transfection à l'aide de l'ExpiFectamine 293 à base de lipides cationiques. Réactif de transfection en combinaison avec des activateurs de transfection optimisés. Tous les composants fonctionnent de concert pour générer des rendements protéiques 2 à 10 fois plus élevés que les systèmes de culture conventionnels tels que le système d'expression Free-styles 293, atteignant des niveaux d'expression supérieurs à 1 g/L pour les protéines IgG et non IgG.

L'objectif principal de la transfection est d'étudier la fonction des gènes ou des produits géniques, en améliorant ou en inhibant l'expression de gènes spécifiques dans les cellules, et

de produire des protéines recombinantes dans des cellules de mammifères. (Bockamp, E. et al. (2002)

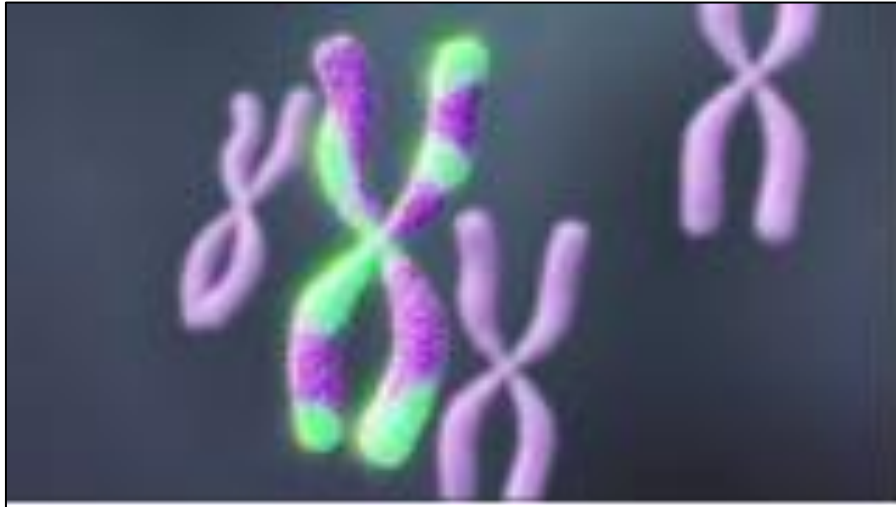


Figure 8. Modification génétique observable sur les chromosomes causés par la transfection (Revue scientifique ; Transfection Méthodes : Chemical Transfection)

La technique pour transfecter une cellule eucaryote se fait à l'aide de diverses méthodes chimiques ou physiques. Cette technologie de transfert de gènes permet d'étudier la fonction des gènes et l'expression des protéines dans un environnement cellulaire.

L'édition de gènes se concentre principalement sur la perte ou le gain de fonctions cellulaires, souvent étudiées par l'insertion d'un gène particulier (modifié) par transfection de plasmide. Malheureusement, une grande variété de cellules sont difficiles à transfecter avec de l'ADN plasmidique. Cette étape cruciale dans les expériences d'expression génétique peut limiter énormément la progression des recherches

L'objectif principal de la transfection est d'étudier la fonction des gènes ou des produits géniques, en améliorant ou en inhibant l'expression de gènes spécifiques dans les cellules, et de produire des protéines recombinantes dans des cellules de mammifères.

La technique pour transfecter une cellule eucaryote se fait à l'aide de diverses méthodes chimiques ou physiques. Cette technologie de transfert de gènes permet d'étudier la fonction des gènes et l'expression des protéines dans un environnement cellulaire.

L'édition de gènes se concentre principalement sur la perte ou le gain de fonctions cellulaires, souvent étudiées par l'insertion d'un gène particulier (modifié) par transfection de plasmide. Malheureusement, une grande variété de cellules sont difficiles à transfecter avec de l'ADN plasmidique. Cette étape cruciale dans les expériences d'expression génique peut limiter énormément la progression des recherches

Les biothérapies cliniques sont fréquemment générées à l'aide de transfectants stables à haute expression, car ils offrent une cohérence d'un lot à l'autre et un faible coût à très grande échelle. Cependant, dans de nombreuses applications de découverte de médicaments, il est avantageux de cribler rapidement des constructions protéiques à l'aide de méthodes de transfection transitoires, qui permettent une évaluation simultanée de diverses molécules candidates en moins d'une semaine. Dans de nombreux cas, des transfections transitoires sont effectuées en parallèle tandis que des lignées cellulaires stables plus gourmandes en ressources sont en cours de développement, ce qui peut prendre plus de trois mois. (JF et al. (1996))

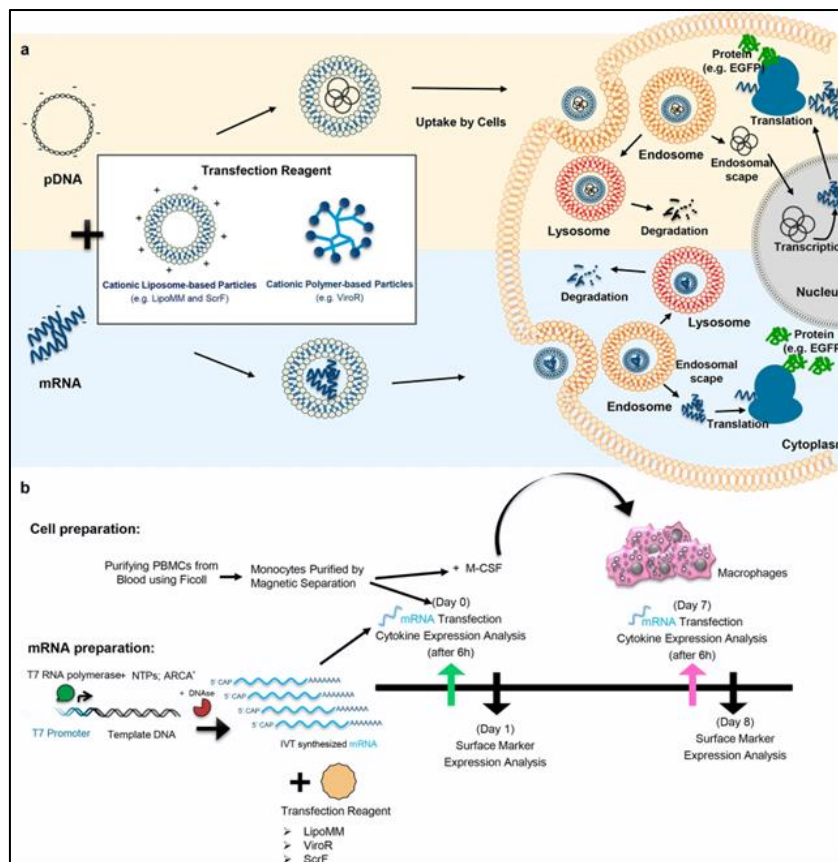


Figure 9. Représentation schématique de la méthode de Lipofection au sein d'une cellule eucaryote (Revue scientifique ; Transfection Mthodes : Chemical Transfection)

II.3. Principes

La transfection est le processus qui permet à des acides nucléiques exogènes de contourner la membrane cellulaire pour entrer dans les cellules. Les acides nucléiques exogènes couramment utilisés sont l'ADN plasmidique, l'ARN, le pARNi (ARNsi ou siRNA, petit ARN interférent) et les oligonucléotides. Une fois introduit dans les cellules, les acides nucléiques modulent l'expression des gènes en entraînant la sur-expression ou le silence d'un gène d'intérêt.

La sur-expression génique est un outil indispensable pour plusieurs applications, de la compréhension du rôle du gène d'intérêt (études de gènes, criblage à haut débit), à la production de produits biologiques tels que des anticorps (production de protéines) et des particules virales recombinantes, notamment à des fins thérapeutiques (production de virus pour la thérapie génique et cellulaire). (Chuang, C.-K. et coll. (2017))

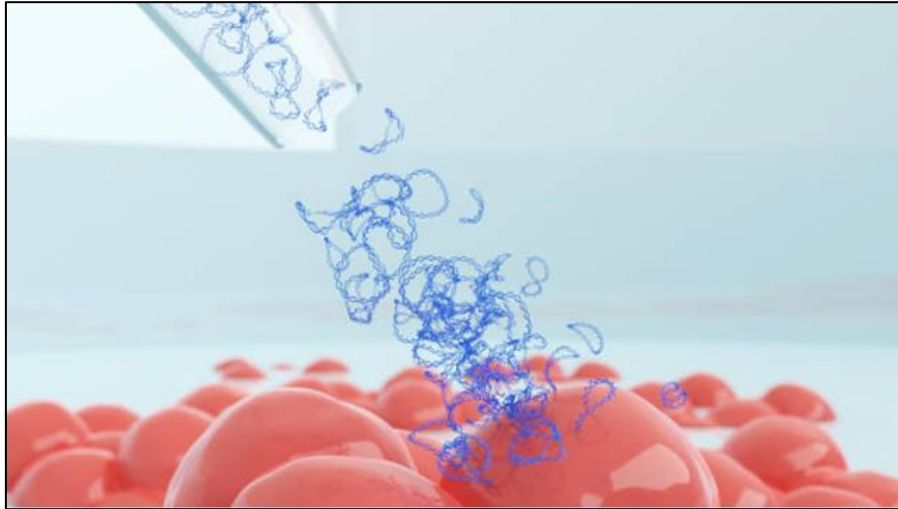


Figure 10. Exposition de culture à l'agent de transfection (Revue scientifique ; Transfection Méthodes : Chemical Transfection)

Le silençage génique est une méthode utilisée pour empêcher l'expression d'un gène d'intérêt. L'expression d'un gène peut être partiellement réduite (gène knockdown) ou complètement bloquée (gène knockout). Parce que n'importe quel gène peut potentiellement être ciblé, le silençage génique est une technique répandue utilisée pour développer des thérapies géniques pour traiter les pathologies monogéniques, le cancer et dans les stratégies d'immunothérapie. La transfection d'acides nucléiques dans des cellules ne peut être réalisée sans l'aide d'une méthode de transfection. Il existe plusieurs méthodes physiques telles que l'électroporation, la sonoporation ou la micro-injection mais ces procédés sont complexes et relativement toxiques pour les cellules de mammifères. Pour résoudre ces problèmes, la transfection à médiation chimique offre une excellente alternative : facilité d'utilisation, efficacité de transfection élevée et excellente viabilité cellulaire à plus ou moins long terme. (Felgner, PL (1990))

II.4. Processus de transfection d'ADN

La méthode la plus connue et la plus utilisée est la transfection d'ADN pour exprimer un gène (modifié) d'intérêt dans vos cellules. A cet effet, un ADN plasmidique formera un complexe avec le réactif de transfection et se fixera sur la membrane cellulaire. Ce complexe réactif-ADN est absorbé par la cellule et l'ADN est libéré dans le cytoplasme par endocytose. Il devra entrer dans le noyau avant de pouvoir être transcrit, via le pré-ARNm, en ARNm. Cette entrée d'ADN dans le noyau est une étape cruciale car l'ARNm est nécessaire pour traduire le gène en une protéine et l'étape la plus difficile à réaliser avec des cellules difficiles à transfecter.

Une fois l'ARNm formé, la molécule d'ARNm sera libérée dans le cytoplasme et traduite en une protéine

Les technologies de transfection classiques ont initialement été développées pour introduire de l'ADN plasmidique dans les cellules, et l'ADN plasmidique reste encore le vecteur de transfection le plus courant. Les plasmides d'ADN contenant des gènes recombinants et des éléments régulateurs peuvent être transfectés dans des cellules pour étudier la fonction et la régulation des gènes, l'analyse mutationnelle et la caractérisation biochimique des produits géniques, les effets de l'expression génique sur la santé et le cycle de vie des cellules, ainsi que pour la production à grande échelle de protéines pour la purification et les applications en aval.

La topologie (linéaire ou superenroulée) et la taille de la construction du vecteur, la qualité de l'ADN plasmidique et le choix du promoteur sont des facteurs majeurs qui influencent l'efficacité de la transfection de l'ADN plasmidique.

La transfection est le processus qui vise à introduire du matériel génétique exogène sous forme d'ADN ou d'ARN dans des cellules eucaryotes. L'entrée de ce matériel génétique dans la cellule permet de séparer l'ouverture transitoire des pores dans les membranes, il est alors possible de faire entrer un plasmide, un petit ARN interférent ou autre. Les cellules manipulées peut accepter un acide nucléique étranger sont appelées cellules compétentes. Il ne faut pas confondre la transfection avec la transduction qui utilise une voie d'entrée différente dans la cellule (par l'utilisation de vecteur viral).

Il existe différentes méthodes de transfection, il s'agit de différents traitements chimiques et/ou physiques qui vont permettre de rendre la membrane plasmique plus perméable. Les principales méthodes utilisées sont :

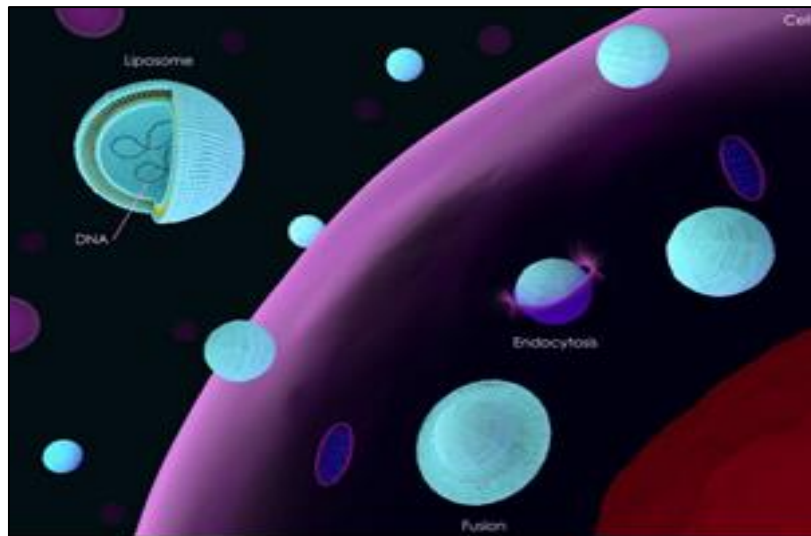


Figure 11. fusion de liposome avec la membrane cellulaire (**Revue scientifique ; Transfection Méthodes : Chemical Transfection**)

La précipitation avec du phosphate de calcium: l'ADN va ainsi Adhérer à la membrane et entrer dans la cellule

La lipofection qui va permettre d'associer l'ADN à des lipides cationiques, cela va créer des sortes de liposomes qui vont entrer dans la cellule par endocytose

L'électroporation qui utilise une impulsion électrique pour dépolariser la membrane et ouvrir les pores (Felgner, PL et al. (1995) et Gao, X. et Huang, L. (1995))

II.5. Processus de transfection d'ARNm

Le processus de transfection d'ARNm est plus simple : l'ARNm est directement délivré et exprimé dans le cytoplasme et ne nécessite donc pas de traverser la membrane nucléaire. Après avoir pénétré à l'intérieur de la cellule il peut être immédiatement traduit en une protéine dans le cytoplasme.

Cette méthode d'expression génique ne nécessite pas que la molécule d'ARNm pénètre dans le noyau. Il s'agit d'une solution idéale pour la transfection de cellules souches, de neurones, de lymphomes et de nombreux autres types de cellules difficiles à transfecter. La nature transitoire de la transfection d'ARNm est souhaitable pour de nombreuses applications, y compris la reprogrammation cellulaire, l'édition du génome (CRISPR/Cas9) et les vaccins.

La transfection est le processus qui vise à introduire du matériel génétique exogène sous forme d'ADN ou d'ARN dans des cellules eucaryotes. L'entrée de ce matériel génétique dans la cellule est permise par l'ouverture transitoire de pores dans les membranes, il est alors possible de faire entrer un plasmide, un petit ARN interférent ou autre. Les

cellules manipulées pour accepter un acide nucléique étranger sont appelées cellules compétentes. Il ne faut pas confondre la transfection avec la transduction qui utilise une voie d'entrée différente dans la cellule (par l'utilisation de vecteur viral).

Il existe différentes méthodes de transfection, il s'agit de différents traitements chimiques et/ou physiques qui vont permettre de rendre la membrane plasmique plus perméable. Les principales méthodes utilisées sont :

La précipitation avec du phosphate de calcium : l'ADN va ainsi adhérer à la membrane et entrer dans la cellule

La lipofection qui va permettre d'associer l'ADN à des lipides cationiques, cela va créer des sortes de liposomes qui vont entrer dans la cellule par endocytose

L'électroporation qui utilise une impulsion électrique pour dépolariiser la membrane et ouvrir les pores (McCutchan, JH et Pagano, JS (1968))

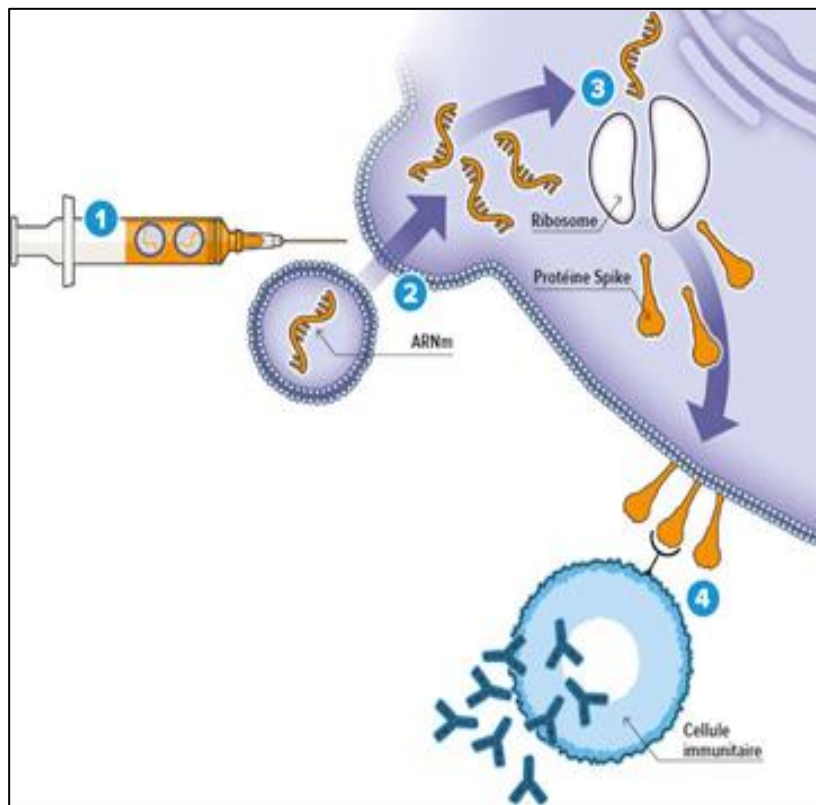


Figure 12. Schéma présentant le mode d'action et de régulation de la transfection au niveau d'une cellule eucaryote (Revue scientifique ; Transfection Méthodes : Chemical Transfection)

II.6. Avantages de la transfection d'ARNm

La transfection d'ARNm présente certains avantages par rapport à la transfection d'ADN qui sont particulièrement utiles lorsque vous travaillez avec des types de cellules difficiles dans la recherche sur l'édition de gènes : L'ARNm a tendance à transférer plus efficacement avec des rendements plus élevés atteints (>80 %) pour les types de cellules difficiles à transférer.

La transfection de l'ARNm entraîne une expression plus rapide de la protéine, car elle n'a pas besoin d'être transcrite au préalable.

L'expression de la protéine est facilement ajustable en changeant les concentrations d'ARNm ou la répétition de transfection.

La transfection d'ARNm ne nécessite pas d'entrée dans le noyau et est donc parfaitement adaptée aux cellules qui ne se divisent pas de risque de mutagenèse insertionnelle, donc pas de modification du génome de la cellule transfectée

En gros, La transfection d'ARNm est aussi simple que la transfection d'ADN, avec l'avantage que l'ARNm n'a pas besoin d'atteindre le noyau cellulaire et ne nécessite pas que la cellule se divise pour générer une expression optimale. **(Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, et al. B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med* 1994; 180 : 1841–47)**

II.7. Transfection à médiation chimique

Il existe trois principales solutions de transfection à médiation chimique :

En capsulation de matériel génétique avec un réactif de transfection : les acides nucléiques sont chargés négativement en raison de leur squelette polyphosphate et sont donc capables d'interagir avec des réactifs de transfection chargés positivement (polymères ou lipides). Cela entraîne la formation de complexes de transfection ou de nanoparticules, qui protègent les acides nucléiques de la dégradation médiée par les nucléases.

Absorption cellulaire des nanoparticules : la plupart des cellules expriment des protéoglycanes d'héparane sulfate chargés négativement sur la surface externe de leur membrane cellulaire, avec lesquels des complexes de transfection chargés positivement sont capables d'interagir. Cette interaction est essentielle pour déclencher l'absorption cellulaire via un processus d'endocytose.

Libération dans le cytosol et si besoin transport dans le noyau pour la transcription : lors de l'absorption cellulaire, les complexes de transfection sont séquestrés dans des vésicules intracellulaires. Nos réactifs de transfection sont capables d'induire la libération des acides nucléiques dans le cytoplasme par rupture ou fusion de la membrane vésiculaire. La plupart des acides nucléiques (oligonucléotides, siRNA, mRNA, etc....) restent dans le cytoplasme où ils sont actifs. En cas de transfert de gène, l'ADN plasmidique est transporté dans le noyau pour une expression transitoire) qui peut devenir permanente après intégration du génome (expression stable)(**Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, et al. B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med*1994; 180 : 1841–47.**)

Conclusion :

En conclusion à la suite de notre étude sur le mécanisme de la transfection Chez les eucaryotes il n'existe pas de stratégie de transfection unique ou universelle qui convienne à toutes les lignées cellulaires et à tous les objectifs expérimentaux. Outre le budget expérimental et la disponibilité des installations requises, le choix d'une approche ou d'une stratégie de transfection optimale dépend de facteurs tels que le type et l'origine des cellules et la forme des acides nucléiques à transférer. Il est également essentiel de prendre en compte les facteurs qui peuvent affecter l'efficacité de la transfection et la cytotoxicité pour les cellules hôtes, ainsi que la manière dont ces paramètres peuvent être évalués avec précision et commodité. De même, l'inclusion de contrôles appropriés dans une expérience de transfection est tout aussi importante pour permettre une évaluation équitable et impartiale des résultats expérimentaux.

Nous avons vu grâce à cette technique et au vu des progrès dans le domaine du génie génétique et dans la recherche pharmaceutique qu'il existe de nos jours des médicaments basés sur ce processus de transfection qui vont par exemple corriger la production d'une protéine qui au départ n'est pas présente ou encore présente mais mal conformée. Nous espérons que dans un futur proche cette technique combinée à la transgénèse l'association de ses deux techniques de transgénèse et de biologie moléculaire permet des manipulations de plus en plus fines du génome. Cependant, certaines utilisations restent limitées à quelques espèces, la souris restant dans ce domaine l'animal modèle par excellence. Le développement des techniques de clonage chez certains mammifères, notamment les ruminants, permettra sans doute de combler rapidement ce retard. Pour d'autres espèces, la physiologie de leur reproduction reste un obstacle important. Les applications actuelles de la transgénèse concernent essentiellement des études très fondamentales sur la fonction et la régulation de l'expression des gènes, ou plus appliquées touchant au domaine médical et paramédical et à la santé animale. Dans le domaine du médical ses techniques permettront de corriger les anomalies d'origine moléculaire observées dans de nombreuses maladies assez contraignantes et chronique telles que le diabète de type 1 à connotation génétique ou encore de réparer l'anomalie lié au canal de chlore dans la maladie de la mucoviscidose.

En résumé, la méthodologie de transfection a connu un développement rapide et diversifié. Par conséquent, nous disposons aujourd'hui d'un large éventail d'options qui répondent parfaitement à nos besoins expérimentaux ou cliniques.

Référence :

1. Alloprof. Science et technologie. La classification des vivants (taxonomie).
2. An, H. et Jin, B. (2012) Perspectives de la liaison nanoparticule-ADN et ses implications dans la biotechnologie médicale. *Biotechnol. Adv.* 30 , 1721–32.
3. Aquaportail.compétition.Compétition : définition, explications
4. Bockamp, E. et al. (2002) Des souris et des modèles : Modèles animaux améliorés pour la recherche biomédicale. *Physiol. Génomique* 11 , 115–32.
5. Boussif, O. et al. (1995) Un vecteur polyvalent pour le transfert de gènes et d'oligonucléotides dans des cellules en culture et in vivo : Polyéthylèneimine. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 92 , 7297–301.
6. Brodeur, J., Toussaint, M., Projetbleu. (2007). Différences entre procaryotes et eucaryotes. *Biologie moléculaire, CCDMD*, p(10). -Duranthon, F. (2010). Darwin, les fossiles et les bases de la classification moderne. *Miranda. Revue pluridisciplinaire du monde anglophone/Multidisciplinary peer-reviewed journal on the English-speaking world*, p(1). - Encyclopédie de l'écologie. Interaction biologique
7. Burkholder, JK et al. (1993) Expression rapide de transgène dans des cultures primaires de lymphocytes et de macrophages après transfert de gène par bombardement de particules. *J. Immunol. Méth.* 165 , 149–56.
8. Cappelletti, MR (1980) Transformation à haut rendement par microinjection directe d'ADN dans des cellules de mammifères en culture. *Cellule* 22 , 479–88.
9. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, *et al.* B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med* 1994; 180 : 1841–47.
10. Chan, C.-L. et coll. (2014) Optimisation des lipides cationiques et neutres pour une délivrance efficace des gènes à haute teneur en sérum. *J. Gene Med.* 16 , 84–96.
11. Chuang, C.-K. et coll. (2017) Génération de porcs mutants par microinjection pronucléaire directe de vecteurs plasmidiques CRISPR/Cas9. *Bio-Protocol* 7 , e2321.
12. Cullis, PR et Hope, MJ (2017) Systèmes de nanoparticules lipidiques pour activer les thérapies géniques. *Mol. L.* 25 , 1467–75.
13. Ding, X. et al. (2017) Livraison nucléaire à haut débit et expression rapide de l'ADN par perturbation mécanique et électrique de la membrane cellulaire. *Nat. Biomédical. Ing.* 1 , 0039.
14. Dziegiel, N. (2016) Les nanoparticules en tant qu'outil de transfection et de transgénèse - une revue. *Ann. Anim. Sci.* 16 , 53–64.
15. Farhood, H. et al. (1995) Le rôle de la dioléoylphosphatidyléthanolamine dans le transfert de gène médié par les liposomes cationiques. *Biochim. Biophys. Acta* 1235 , 289–95.
16. Felgner, PL et al. (1987) Lipofection : une procédure de transfection d'ADN à médiation lipidique hautement efficace. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 84 , 7413–7.
17. Felgner, PL (1990) Systèmes particuliers et polymères pour la délivrance in vitro et in vivo de polynucléotides. *Adv. Déliv. Rév.* 5 , 163–87.
18. Felgner, PL et al. (1995) Amélioration des formulations de lipides cationiques pour la thérapie génique in vivo. *Ann. NY Acad. Sci.* 772 , 126–39.
19. Forterre, P., Gribaldo, S., & Brochier, C. (2005). Luca : à la recherche du plus proche ancêtre commun universel. *Médecine/sciences*, 21(10), 860-865. – Joyard, j. (2022, 27 Mars). Encyclopédie de l'environnement. Qu'est-ce que la biodiversité ?

20. Fraley, R. et al. (1980) Introduction d'ADN de SV40 encapsulé dans des liposomes dans des cellules. *J. Biol. Chim.* 255 , 10431–5.
21. Gao, X. et Huang, L. (1995) Transfert de gène médié par les liposomes cationiques. *Gène Ther.* 2 , 710–22.
22. Graham, FL et van der Eb, AJ (1973) Une nouvelle technique pour le dosage de l'infectivité de l'ADN de l'adénovirus humain 5. *Virologie* 52 , 456–67.
23. Groskreutz, D. et Schenborn, ET (1997) Systèmes de rapport. Dans : *Methods in Molecular Biology* 63, 11 éd. R. Tuan, Humana Press, NJ.
24. G. et Weissmann, G. (1968) Sphérules phospholipidiques (liposomes) comme modèle pour les membranes biologiques. *J. Lipid Res.* 9 , 310–8.
25. Ibibidi.com
26. JF et al. (1996) Transfert efficace de matériel génétique dans des cellules de mammifères à l'aide de dendrimères de polyamidoamine Starburst. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 93 , 4897–902.
27. Joyard, j., SELOSSE, M. (2021, 17 Avril). Encyclopédie de l'environnement. Symbiose et évolution : à l'origine de la cellule eucaryote
28. Kabanov, AV et Kabanov, VA (1995) Complexes d'ADN avec des polycations pour la livraison de matériel génétique dans les cellules. *Bioconjugué Chem.* 6 , 7–20.
29. Kawai, S. et Nishizawa, M. (1984) Nouvelle procédure de transfection d'ADN avec polycation et diméthylsulfoxyde. *Mol. Cellule. Biol.* 4 , 1172–4.
30. Kim, TK et Eberwine, JH (2010) Transfection de cellules de mammifères : le présent et l'avenir. *Anal. Bioanal. Chim.* 397 , 3173–8.
31. Klein, TM et al. (1987) Microprojectiles à grande vitesse pour délivrer des acides nucléiques dans des cellules vivantes. *Nature* 327 , 70–3.
32. Labat-Moleur, F. et al. (1996) Une étude de microscopie électronique sur le mécanisme de transfert de gènes avec des lipopolyamines. *Gène Thérap.* 3 , 1010–7.
33. Langley, L. (2020, 29 Septembre). National Geographic. Environnement. Le mutualisme : quand la nature est à l'œuvre.
34. Larousse. Encyclopédie divers. Biodiversité. Classification des espèces.
35. McCutchan, JH et Pagano, JS (1968) Amélioration de l'infectivité du virus simien 40 acide désoxyribonucléique avec du diéthylaminoéthyl-dextrane. *J. Natl. Institut de cancérologie* 41 , 351–7.
36. Ogura, R. et al. (2005) Luciférase multicolore en tant que rapporteur pour surveiller l'expression transitoire des gènes dans les plantes supérieures. *Biotechnologie Végétale* 22 , 151–5.
37. Oui, GN et al. (1990) Optimisation de la livraison d'ADN étranger dans des chloroplastes de plantes supérieures. *Plante Mol. Biol.* 15 , 809–19.
38. Ravachol, D. O. (2007). Classifications biologiques et problématiques. *Recherches en éducation*, p(3). -shutterstock. Photo chat (felissilvestris).
- 39.
40. Sarver, NP et al. (1981) Acide désoxyribonucléique du virus du papillome bovin : un nouveau vecteur de clonage eucaryote. *Mol. Cellule. Biol.* 1 , 486–96.
41. Schimke, RT (1988) Amplification génique dans des cellules cultivées. *J. Biol. Chim.* 263 , 5989–92.
42. Shigekawa, K. et Dower, WJ (1988) Électroporation des eucaryotes et des procaryotes : une approche générale de l'introduction de macromolécules dans les cellules. *BioTechniques* 6 , 742–51.

43. Silar, P. (2016). Protistes Eucaryotes. -Site Cours pharmacie, Biologie cellulaire. Cellules procaryotes et cellules eucaryotes.
44. Site Evolution biologique. Histoire du vivant. La cellule a noyau. Comparaison des cellules eucaryotes et procaryotes.
45. Stewart, MP et al. (2016) Stratégies in vitro et ex vivo pour la livraison intracellulaire. *Nature* 538 , 183–92.
46. Tranchant, I. et al. (2004) Optimisation physico-chimique de la délivrance de plasmide par des lipides cationiques. *J. Gene Med.* 6 , S24–S35.
47. Vaheri, A. et Pagano, JS (1965) ARN du poliovirus infectieux : Une méthode sensible de dosage. *Virologie* 27 , 434–6.
48. Wall RJ (2001) Microinjectionpronucléaire. Clonage de cellules souches 3 , 209–20.
49. Web sciences : préparation aux études supérieure. Qu'est ce qu'une cellule ?. Procaryote : cellule bactérienne
50. Wong, TK et Neumann, E. (1982) Transfert de gène médié par un champ électrique. *Biochimie. Biophys. Rés. Commun.* 107 , 584–7.