



*Le Dr Narang en compagnie de ses collègues du CNRC, les Drs Roland Brousseau et Wing Sung.*

tosine à la guanine. C'est le gène opérateur reconstitué par le Dr Gilbert.

"Nous l'avons fabriqué en moins de quatre mois", dit-il. "Avec l'ancienne méthode nous aurions mis au moins deux ans et le rendement aurait été bien inférieur. Nous avons dû reconstituer les deux brins complémentaires pour obtenir le gène tel qu'il se présente naturellement. Cette chaîne naturelle s'appelle 'duplex d'ADN'."

Le gène synthétisé au Canada fut expédié au Dr Ray Wu, de l'Université Cornell, à Ithaca, dans l'État de New York. Celui-ci démontra clairement que le gène synthétique se fixait exclusivement au répresseur et que le lactose altérerait cette liaison. C'était le premier gène synthétique qui manifestait la même activité biologique que son homologue naturel.

Cette expérience réalisée en collaboration avec le Dr Wu ouvrit la voie à une série de travaux conjoints entre les laboratoires d'Ottawa et l'Université Cornell. Leur aboutissement fut la mise au point d'une bactérie capable de synthétiser de l'insuline. Grâce à sa connaissance

approfondie des systèmes enzymatiques bactériens et notamment des enzymes intervenant dans la formation ou la rupture des liaisons entre nucléotides, le Dr Wu apporta une contribution essentielle aux travaux du Dr Narang. Au cours des années 70, le Dr Wu et le Dr Fred Sanger, biochimiste britannique, mirent au point une méthode rapide pour mettre en évidence la séquence de nucléotides dans l'ADN. Cette méthode, qui représente l'une des importantes percées accomplies en biologie moléculaire au cours de la décennie en question, est appelée 'analyse en deux dimensions' et consiste à détacher à l'aide d'enzymes les bases d'un échantillon d'ADN puis à les identifier d'après la direction qu'elles prennent sous l'effet de champs électriques et de solvants spéciaux. "Nous avons besoin d'un procédé de vérification rapide et précis comme celui-ci", ajoute le Dr Narang. "En fait, il suffit d'une erreur au niveau d'une seule base pour que le gène entier soit défectueux."

Les Drs Narang et Wu réalisaient que les gènes de grande taille ne pouvaient pas être reconstitués uniquement à l'aide de moyens chimiques. L'approche qui faisait intervenir la chimie des triesters permettait d'enchaîner de trente à qua-

rante bases mais, lorsque leur nombre augmentait, le rendement de cette méthode devenait trop faible. Cependant, le Dr Wu, qui disposait d'enzymes bactériennes capables de lier de petits segments d'ADN, suggéra au laboratoire d'Ottawa de reconstituer le gène de l'insuline en unités de dix à vingt bases et de les expédier à l'Université Cornell où elles seraient reliées à l'aide de 'ligases'.

Les scientifiques canadiens pouvaient ainsi, en peu de temps, obtenir un gène qu'ils auraient par la suite cloné et mis à l'épreuve à l'aide des nouvelles techniques de recombinaison génétique. Ces techniques s'appuient sur l'utilisation de véhicules appelés plasmides et qui sont de petites boucles d'ADN, indépendantes du chromosome, rencontrées chez les bactéries. Ces plasmides peuvent être non seulement retirés des cellules bactériennes puis réintroduits sans que la salinité du milieu ne soit trop modifiée, mais également coupés à l'aide d'enzymes spéciales. Ceci permet l'insertion de segments d'ADN étrangers dans le plasmide ainsi 'recombiné' que la bactérie peut cloner par la suite en se reproduisant.

"Ces enzymes spéciales, appelées 'endonucléases de restriction'", explique le Dr Narang, "ne coupent l'ADN