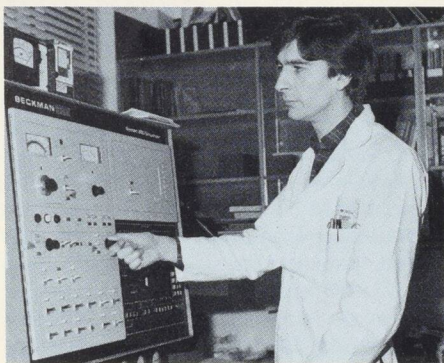


Deuxième partie: Etablissement de la séquence de l'oncomoduline

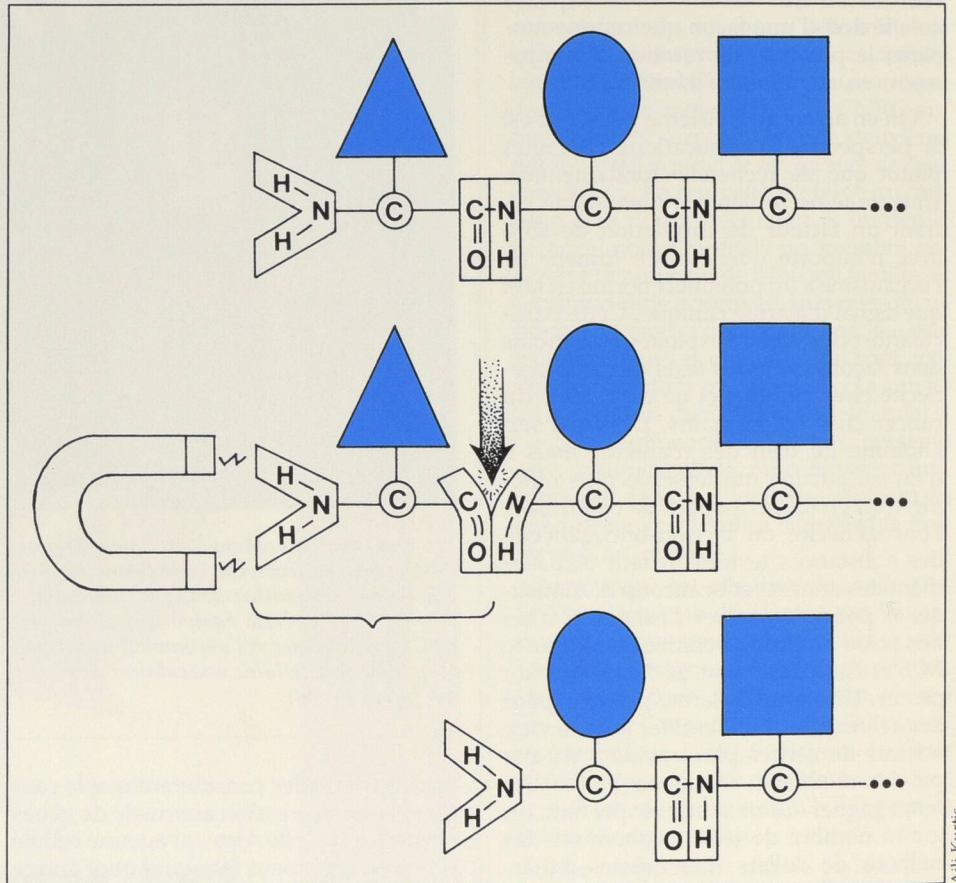
Dave Watson est un technicien qui travaille avec le Dr Mak Yauchi au laboratoire de génétique moléculaire du CNRC. En janvier 1982, il lui fut remis une quantité infinitésimale d'une nouvelle protéine étrange découverte par John MacManus et autres dans des tumeurs de rats. C'est à Watson que revint la tâche d'aider MacManus à en déterminer la "structure primaire".

Comme chacun sait, on ne peut pas vivre sans protéines. Elles entrent dans la composition des cheveux, des cartilages et des muscles humains; l'insuline, l'interféron et l'hormone de croissance sont des protéines. Toutes ces substances renferment une succession d'éléments chimiques plus simples que l'on appelle des acides aminés et qui sont reliés entre eux par des "liaisons peptidiques" identiques, le tout formant une chaîne. On ne pourra donc caractériser une protéine qu'après avoir identifié ses acides aminés et déterminé leur disposition séquentielle. D'autres méthodes seront ensuite appliquées pour décrire ses plis et ses chaînes latérales. Mais toutes ces descriptions s'appuient sur la "structure primaire" de la séquence de ses acides aminés.

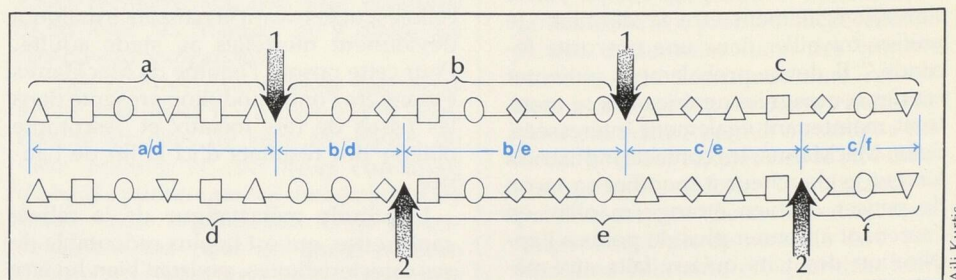


Dave Watson, qui a établi la séquence de l'oncomoduline de rat au bout de 12 mois de travail (janvier à décembre 1982).

Comment procède-t-on pour établir cette séquence? Les techniciens de laboratoire commencent habituellement par une extrémité de la chaîne et séparent les acides aminés un à un. Ils identifient ensuite chaque acide aminé ainsi isolé à l'aide de tests standard. Il fut un temps où cela se faisait manuellement mais on dispose maintenant de machines informatisées qui se chargent automatiquement des premières étapes de la détermination de la séquence, arrivant à identifier jusqu'à 18 acides aminés en une seule journée de travail ininterrompu.



L'établissement de la séquence des protéines: la théorie. Toutes les protéines sont composées d'une chaîne d'acides aminés (formes colorées) dont la longueur peut atteindre de nombreuses centaines d'unités. À une extrémité (à gauche) se trouve NH_2 , qui est un groupe 'd'acides aminés'; et à l'autre COOH , qui est un 'groupe carboxyle' (à droite). Les liaisons peptidiques lient les acides aminés entre eux. Lorsqu'on utilise une méthode classique de séquençage appelée dégradation d'Edman, le réactif appelé PITC (représenté ici par un aimant) se fixe sur le groupe d'acides aminés et affaiblit la liaison peptidique entre le premier et le second acide aminé. Un deuxième réactif (flèche) assure la séparation de cette liaison affaiblie, libérant le premier acide (triangle coloré) pour l'analyse. Le processus est ensuite répété à l'aide d'une machine informatisée pour une série de trente à quarante acides aminés.



Comment peut-on établir la séquence des 108 acides aminés de l'oncomoduline du rat lorsque la machine ne peut traiter que trente à quarante acides aminés à la fois? Réponse: vous réduisez la totalité de la protéine en fragments à l'aide d'un réactif (flèches #1) et vous établissez la séquence de chacun de ceux-ci. En répétant la procédure une deuxième fois avec un autre réactif qui sépare l'oncomoduline entre deux acides aminés distincts (flèches #2), on constate que certaines séquences des deux séries de fragments se chevauchent. Les chevauchements (couleur) révèlent la totalité de la séquence en montrant comment les fragments coïncident. Un troisième séquençage, à l'aide d'un autre réactif, sert de contrôle.