

Travaux Pratique en Biomarqueurs Moléculaires et Nutrition

JSSN volume 12 numéro 3, Décembre 2024.

Sommaire

1- EVALUATION DE LA CONSTITUTION EN ADN DE NOS VEGETAUX, FRUITS ET LEGUMES CONTRIBUANT A L'AMELIORATION DE NOTRE ALIMENTATION	2
2- TECHNIQUES DE CONTROL DE QUALITES EN ADN ET PROTEINES DE DEUX FRUITS ENDOGENES : L'AVOCAT ET LA PAPAYE	7

1- EVALUATION DE LA CONSTITUTION EN ADN DE NOS VEGETAUX, FRUITS ET LEGUMES CONTRIBUANT A L'AMELIORATION DE NOTRE ALIMENTATION

Auteurs : Elodie AGOHOUNDJÉ, Sara HOUNGUE, Firmin SAGBO, Callinice D. CAPO-CHICHI

Laboratoire des Biomarqueurs Moléculaires en Cancérologie et Nutrition / BioINOV/ FAST/ UAC

I- Introduction

L'ADN (l'acide désoxyribonucléique) est le support moléculaire de l'information génétique présente chez toutes formes d'être vivants. Sa taille varie d'une espèce à une autre dont l'espèce animale et végétale [1]. Nous avons investigué la composition en acide désoxyribonucléique des végétaux, fruits et légumes locaux afin de les catégoriser selon leur teneur en molécule d'ADN. Une caractéristique physico-chimique de cette dernière est d'être insoluble dans l'alcool [2]. Après une extraction avec l'éthanol 90°, la molécule d'ADN du végétal se présente sous forme d'un précipité blanc (méduse) qui permet d'identifier de manière précise les espèces végétales riche en ADN [2, 3]. L'ADN peut être utilisé pour faire le génie génétique intervenant dans l'amélioration des espèces végétales, en facilitant le développement de nouvelles variétés résistantes aux maladies et ayant des caractéristiques agronomiques améliorées etc [7, 8]. De plus, l'étude de la constitution de l'ADN permettra la conservation du matériel génétique et la préservation de la biodiversité [9, 10].

Objectif : Cette étude vise à évaluer la composition en ADN de certains de nos légumes consommés au Bénin afin de les recommander dans les traitements nutritionnels de certaines maladies.

II- Matériel et méthodes

Les échantillons sur lesquels se sont déroulés nos travaux sont des lysats de légumineuses, de céréales, et de feuilles vertes. Les végétaux utilisés sont : *Corchorus olitorius* L. (Crincri); *Talinum paniculatum* (Glacéman); *Vernonia amygdalina* (Vernonia); *Phaseolus vulgaris* (Haricot); Assisôê.

Nous avons pesé 5 g de chaque matériel végétal avec une balance de précision avant de le broyer dans un mortier puis, d'y ajouter 1,5 g de sel. Le mélange est transféré

dans des tubes ECBU et dilué dans 10 mL de tampon de lyse composé du liquide vaisselle (savon liquide) et du sel de mer, tout en agitant toutes les 30 secondes pendant 5 minutes. Le filtrat est réalisé à l'aide d'une seringue pré-compacté avec du coton hydrophile. Après avoir filtrer le mélange à l'aide d'un coton hydrophile et d'une seringue, nous avons ajouté lentement au filtrat un volume égal d'alcool pré-refroidi et laisser reposer le mélange pendant 20 minutes pour observer la précipitation d'ADN sous forme de filament blanchâtre (pelotte).

Par la suite, l'ADN est prélevé sous forme de filament blanchâtre et rincé une fois avec de l'éthanol 70% avant de sécher à l'air libre. Après le séchage le culot d'ADN est solubilité avec de l'eau distillée stérile et sa concentration à été ensuite avec un spectrophotomètre.

III- Résultats et discussion

L'ADN présente dans le matériel végétal est sous forme de filament blanc. La quantité diffère d'un matériel végétal à un autre.



Figure 1: Pelotes d'ADN après ajout de l'alcool frais

Tous végétaux, ont un filament blanc (ADN) mais en quantité différentes.

Le spectrophotomètre, nous a permis de mesurer la quantité d'ADN présente dans chaque matériel végétal.

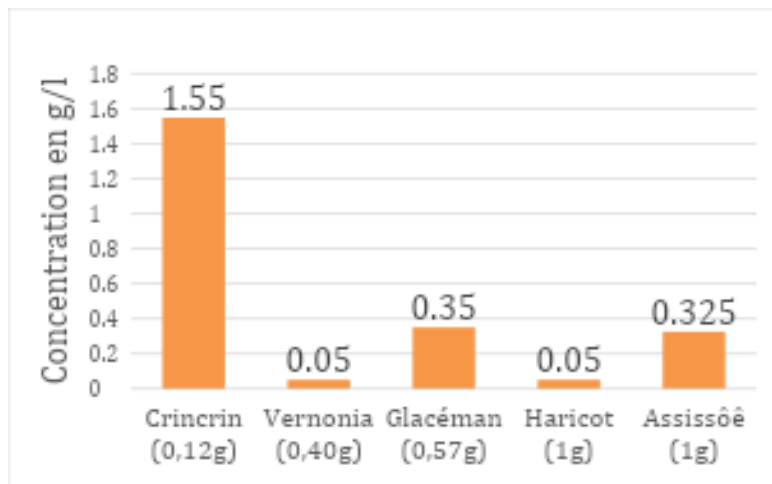


Figure 2 : Concentration de l'ADN des matériels végétaux au spectrophotomètre

La concentration en ADN du *Corchorus olitorius* L. (1,55) est plus élevée que celle de *Talinum paniculatum* (0,35). Le *Vernonia amygdalina* et *Phaseolus vulgaris* ont une concentration en ADN égal à 0,05.

Par conséquent le *Corchorus olitorius* contient plus d'ADN que le reste du matériel végétal utilisé. A cet effet, il serait donc souhaitable d'améliorer notre alimentation en combinant des matériels végétaux moins riches en ADN avec ceux qui sont riches en ADN.

V-Conclusion

L'évaluation de la constitution en ADN des végétaux est un domaine qui influence directement notre alimentation. Cette évaluation nous permet d'améliorer non seulement la qualité nutritionnelle des fruits et légumes, mais aussi une alimentation saine et durable à long terme.

VI- Référence

[1] Y Carton Michel DELSENY, Des graines, des fleurs et de l'ADN. Vers une biologie moléculaire des plantes Préface de François Gros, Paris, Odile Jacob, 368 p. Tome XII n°2, La biologie et la révolution moléculaire : récits choisis (volume 2). Doi : <https://doi.org/10.4000/gtct>. 2020.

[2] S MEDJANI Cour 01 : ADN : propriétés, extraction, purification et quantification. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/fr/>. 1.0 Février 2024.

[3] ABDELKOUÏ, Yasmin, RETTAT, Loubna, SI YAHIAOUI, Aïcha ABEKHTI, Abdlkader Etude comparative de trois méthodes d'extraction d'ADN à partir de différentes matrices biologiques. Spécialité: Biochimie Appliquée. <https://dspace.univ-adrar.edu.dz/jspui/handle/123456789/7959>.2022

[4] Matthieu Lingrand; Caroline Scotti-Saintagne; Sylvie Oddou-Muratorio Marianne Correard; Olivier Gilg; Franck Reï; Anne Roig ;Patrice Brahic Evaluation de l'effet de la conservation du matériel végétal sur la quantité et la qualité de l'ADN, en vue de la mise en place d'une politique de gestion du stockage des échantillons. Le Cahier des Techniques de l'Inra 2021 (106)

[5] Chahrazad EL ANBRI Ahmed BOUGHADAD Patrick CHAIMBAULT Abdelhamid ZAID El Mostafa EL FAHIME, Variabilité des huiles essentielles et de l'ADN de deux souches de *Mentha spicata* L. (glabre et pubescente) de la région de Meknès. Vol. 9 No. 4. Production Végétale et Environnement. 2021

[6] Abbas A, Oulad Belkhir A, KACHI MESSAOUD, Comparaison des méthodes d'extraction d'ADN génomique du dromadaire et étude phénotypique. UNIVERSITE KASDI-MERBAH-OUARGLA. <https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/handle/123456789/29045>. 2021

[7] Benjamin Raimbault, Dans l'ombre du génie génétique : le génie métabolique, Nat. Sci. Soc. Volume 29, Number 3, Natures Sciences Sociétés 29, 3, 262-273. DOI : <https://doi.org/10.1051/nss/2021063> [Pubmed]. Juillet/Septembre 2021.

[8] Alix Auter, Aymeric Deplace, Damien Freytag, Marion Kern, Pierre-Grégoire Plasse, Lucas Walther et Dorine Zimmermann, L'évolution des biotechnologies pharmaceutiques : faire parler le génome pour développer, améliorer et personnaliser les thérapies et la prise en charge des patients, Biologie Aujourd'hui Volume 214, Numéro 3-4, P.91 – 95. Centenaire de la Société de Biologie de Strasbourg. DOI : <https://doi.org/10.1051/jbio/2020015>. 2020

[9] Matthieu Lingrand , Caroline Scotti-Saintagne , Sylvie Oddou-Muratorio , Marianne Correard , Olivier Gilg , Franck Reï , Patrice Brahic , Anne Roig , Marianne Correard , Gestion du stockage des échantillons : évaluer l'effet du temps et de la méthode de conservation du matériel végétal sur la quantité et la qualité de l'ADN extrait, HAL Id : hal-04624294 , version 1. DOI : 10.17180/novae-2022-NS02-art12. 2022.

[10] Aurélie Lacoeylthe , Katia Hérard , Laurent Poncet , Julien Touroult, Zoom sur l'ADN environnemental - Synthèse du document "Intérêts et enjeux de l'utilisation de l'ADN environnemental pour l'inventaire, le suivi et la surveillance de la biodiversité des milieux dulcicoles, marins et terrestres, PatriNat (OFB-MNHN-CNRS-IRD). p.52. <hal-04561160>. 2024

2- TECHNIQUES DE CONTROL DE QUALITES EN ADN ET PROTEINES DE DEUX FRUITS ENDOGÈNES : L'AVOCAT ET LA PAPAYE

Auteurs : Elodie Agohoundje, Angélique Fongni, Gisèle Houedjiekpon, Rebecca Hounsounou, Sara Houngue, Callinice D. Capo-chichi.

Unité des Biomarqueurs Moléculaires en Cancérologie et Nutrition

Faculté des Sciences et Techniques (FAST). Université d'Abomey Calavi (UAC).

I. Introduction

La papaye (*Carica papaya*) et l'avocat (*Persea americana*) sont deux fruits tropicaux largement cultivés et reconnus pour leurs propriétés nutritionnelles. La papaye est riche en vitamines A et C, ainsi qu'en fibres, et elle est célèbre pour sa richesse en enzymes digestives comme la papaïne, qui soutient la santé digestive [1]. De même, l'avocat se distingue par sa teneur élevée en lipides sains, vitamines et minéraux et est un aliment de choix dans de nombreux régimes [2, 3]. Au-delà de leurs bienfaits nutritionnels, ces fruits présentent des propriétés biologiques et biochimiques intéressantes [4]. L'étude de leurs composants génétiques et protéiques permet d'approfondir notre compréhension des mécanismes qui régulent leur développement et leurs effets bénéfiques. L'extraction de l'ADN des fruits ouvre la voie à des applications variées, telles que la PCR et le clonage, pour explorer leur biodiversité génétique [5]. Parallèlement, la caractérisation des protéines à travers des techniques comme l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) offre des aperçus précieux sur les profils protéiques de ces fruits. Des recherches récentes se concentrent sur l'impact des composants de ces fruits dans les métabolismes cellulaires participant à la restauration des mécanismes cellulaires initiateurs des maladies chroniques dont le cancer [6]. Cette exploration vise à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, soulignant ainsi l'importance croissante de ces fruits dans la recherche biomédicale.

Objectif : Cette étude vise à établir un protocole simple utilisé en travaux pratiques pour l'évaluation de la teneur visuelle en ADN et en protéines des fruits communément consommés au Bénin afin de les recommander dans les traitements nutritionnels de certaines maladies.

Cette étude a porté spécifiquement sur l'analyse comparative de la teneur en molécules d'ADN et de protéines présentes dans la papaye et l'avocat. La priorité a été mise sur l'analyse comparative des protéines spécifiques des variétés d'avocats circulant sur les marchés locaux en République du Bénin pour mieux évaluer leurs qualités nutritionnelles.

II. Matériel et méthodes :

II.1 Extraction d'ADN

Peser 3 g de fruit (papaye ou avocat) et le broyer dans un mortier

avant d'y ajouter 1,5 g de sel. Le mélange est transféré dans des tubes ECBU et dilué dans 10 mL de tampon de lyse composé du liquide vaisselle (savon liquide) et du sel de mer, tout en agitant toutes les 30 secondes pendant 5 minutes.

Le filtrat est réalisé à l'aide d'une seringue pré-compacte avec du contenu hydrophile. Après avoir filtrer le mélange à l'aide d'un coton hydrophile et d'une seringue, ajouter lentement au filtrat un volume égal d'alcool pré-refroidi et laisser reposer pendant 20 minutes pour observer la précipitation d'ADN.

II.2 Caractérisation des protéines

Peser 1g de fruit (papaye ou avocat) et broyer puis ajouter 200 µL de RIPA. Laisser le mélange à 4 degrés Celcius pour permettre l'extraction des protéines. Ces dernières sont alors dénaturées à l'aide d'une solution contenant du SDS et 2 mercapto-métanol comme précédemment rapporté [7]

Ainsi (40µl de SDS+ bêta mercapto ethanol pour 1 ml de RIPA). La dénaturation est finalisée par un chauffage sur une plaque chauffante à 95°C pendant 15 minutes

Préparation du gel de séparation à 10% puis du gel de concentration à 5% [7].

Déposer 10µl des échantillons dénaturés dans les puits du gel et réaliser la migration dans un cuve de migration à 100 Volts et 400 Ampères pendant 1h30.

La révélation des protéines est possible grâce à la coloration au bleu de Coomassie [7].

Colorer avec du bleu de Coomassie durant 1h, puis décolorer sur un agitateur mécanique jusqu'à ce que les bandes protéiques soient visibles.

III. Résultats et discussion

III.1 Extraction d'ADN

Après la précipitation d'ADN observable sous forme de filament blanc nous avons constaté que :

La papaye et l'avocat endogène ont une teneur importante en ADN. Cependant, l'ADN de l'avocat local occupe presque $\frac{1}{4}$ du flacon. Comparativement à l'ADN de l'avocat beurré qui occupe moins de $\frac{1}{4}$.

Il a été ainsi observé que la teneur en ADN retrouvée dans l'avocat ordinaire est plus abondante que celle de l'avocat beurré. Cela suggère que la consommation d'avocat ordinaire pourrait être plus bénéfique sur le plan nutritionnel, en raison de sa richesse en ADN et protéine de même que la papaye.



Figure 1 : Observation des pelotes d'ADN, a-) Flacon contenant la pelote d'ADN de l'avocat local, b-) Flacon contenant la pelote d'ADN de la papaye

III.2 Caractérisation des protéines

L'analyse des protéines par électrophorèse (SDS-PAGE) a révélé des profils protéiques distincts entre la papaye et l'avocat comparativement au lait qui est le témoin.

Dans l'échantillon de papaye et de l'avocat ont des bandes spécifiques similaires et des dissemblances en d'autres bandes. Le lait a été utilisé comme témoin.

En revanche, l'absence de certaines bandes dans les échantillons de papaye, comparés aux témoins (lait) et aux autres fruits, pourrait suggérer une différence dans la composition protéique globale ou une faible concentration de protéines non

déTECTABLES par la méthode utilisée. De plus, la variation de l'intensité des bandes entre les échantillons pourrait refléter des différences d'expression des protéines, influencées par des facteurs environnementaux ou l'état physiologique du fruit au moment de l'extraction.

Il est conseillé de privilégier les fruits qui sont à la fois riches en ADN et en protéines, tels que l'avocat local, la papaye. Cela permet d'assurer une bonne santé et de consommer des fruits de qualité.



Figure 2 : présentation du profil protéique de l'avocat et de la papaye sur gel de polyacrylamide après coloration au bleu de coomassie

Conclusion

Il en découle qu'il est important de faire le control de qualité en ADN et protéines des fruits et légumes en vente sur le marché avant de les conseiller pour une nutrition équilibrée et restauratrice des voies métaboliques défailantes.

IV-Références

[1] Bomo Justine Assanvo ,Michel Arthur Niamké ,Pascal Liadé Eric Bahi, Véronique Coxam , Séraphin KatiCoulibaly ,Kouamé Mathias Koffi .PARAMETRES PHYSICOCHIMIQUES ET COMPOSITION NUTRITIVE DE LA PULPE DE 4 VARIÉTÉS DE PAPAYE (Carica papaya) VENDUES SUR LE MARCHÉ D'ABIDJAN (CÔTE d'IVOIRE). American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. ISSN 2429-5396 | www.american-jiras.com.2022

[2] L'influence de la consommation de fruits et légumes sur la santé SCURTUL, Sabina; POPOV, Svetlana, Sabina SCURTUL et Svetlana POPOV, URI: <http://repository.utm.md/handle/5014/28232>. 2024

[3] Chaimae Nasri, Yasmina Halabi, Hicham Harhar¹, Faez Mohammed, Abdelkadir Bellaouchou, Abdallah Guenbour et Mohamed Tabyaoui. Caractérisation chimique de l'huile de quatre variétés d'Avocat cultivées au Maroc. OCL Volume 28, Huiles mineures de sources végétales atypiques Numéro d'article (19) P.11. DOI : <https://doi.org/10.1051/ocl/2021008>. 2021

[4] Patrick O. Igbinaduwa, Uchenna B. Okeke, Kimberly C. Dike, Ageloisa E. Olohigbe, Effet de la maturation induite par le carbure de calcium sur la composition en vitamine C et en minéraux des fruits de banane (*Musa acuminata*) et de papaye (*Carica papaya*) provenant de la ville de Benin, au Nigéria. Vol. 33 No. 1 . DOI: <https://doi.org/10.60787/wapcp-33-1-259>. 2023

[5] Abdellaoui Raoudha, Sayah Amel, Gouja Hassen, Ouled Belgacem Azeiz, Extraction de l'ADN et optimisation de la PCR (Polymorphism Chain Reaction) pour l'application des marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) chez *Stipa lagascae* DNA extraction and PCR (Polymorphism Chain Reaction) optimization for RAPD markers application in *Stipa lagascae*. *Etres de botanique* Volume 159 - Numéro 1. 73-78 . Doi : <https://doi.org/10.1080/12538078.2012.671646>, 2012

[6] Emeline Boët, Estelle Saland, Sarah Skuli, Emmanuel Griessinger, Jean-Emmanuel Sarry, Mitohormesis : la clé de voûte de la résistance thérapeutique des cellules cancéreuses, *Comptes Rendus. Biologies*, Volume 347 \$, pp. 59-75. DOI : 10.5802/crbiol.154. 2024

[7] _ Callinice D Capo-chichi, Blanche Aguida, Luc Valère Codjo Brun, Alladagbin D. Jeanne, Le profil des protéines nucléaires lamines A/C chez les femmes vivant avec le VIH comme indicateurs de risques de cancers. ISSN: 1840-585, Edition de Décembre 2015

[8] Aguida et Capo-chichi JSSN 2012 ,La richesse en protéines des légumineuses, céréales et feuilles vertes communément consommés au Bénin. ISSN : 1840-6963. JSSN Vol 3(1) Octobre 2015

