

Sommaire

Avant-propos.....	7
1° Origine et développements.....	9
1-1. Définition du gène.....	10
1-2. Les Biotechnologies : à quoi servent-elles ?.....	12
1-3. Limites des techniques biochimiques traditionnelles.....	14
1-4. Idée, Arme et Méthode des biotechnologies.....	16
2° PRINCIPE DU CLONAGE.....	21
2-1. Définition d'un clone.....	21
2-2. Isolement d'un clone.....	21
2-3. Principe du clonage moléculaire.....	22
3° ADN – vecteurs.....	29
3-1. Les ADN-vecteurs.....	29
3-2. Les plasmides.....	29
3-3. Les bactériophages.....	31
3-4. les cosmides.....	32
3-5. Propriétés des ADN-vecteurs.....	34
4° Outils moléculaires.....	35
4-1. Les enzymes de restriction.....	35
4-2. La transcriptase inverse.....	41
4-3. L'ADN ligase.....	43
5° Techniques.....	45
5-1. Assemblage d'ADN <i>in vitro</i>	45
5-2. Clonage d'ADN recombinant.....	46
5-3. L'électrophorèse.....	48
5-4. Cartes de restriction.....	49
5-5. Séquençage classique / différentiel : des ADN méthylés ...	53
5-6. Hybridation moléculaire.....	63
5-7. Applications : techniques de Southern, Northern, Westernet techniques apparentées.....	69
5-8. Les hybridations <i>in situ</i> : HIS	74
5-9. L'immunohistochimie.....	79
5-10. La technique de PCR.....	80
6° ADNc et clones d'ADNc double brin.....	85
6-1. Définition d'un ADNc Synthèse d'un ADNc	85
6-2. Obtention d'un ADNc double-brin ("cDNA").....	87

6-3. Clonage d'un "cDNA"	88
6-4. Banque de "cDNA"	89
6-5. Utilisations des "cDNA "	90
6-6. Identification d'un clone recombinant " cDNA "	93
7 ° Sondes moléculaires.....	95
7-1. Définition de la sonde moléculaire	95
7-2. Nucléotides modifiés et Choix du marquage <i>in vitro</i>	99
7-3. Utilisations / révélation du marquage aux sondes chaudes.....	103
7-4. Utilisations / révélation du marquage aux sondes froides.....	105
8° Banques génomiques.....	113
8-1. Définition	113
8-2. Construction d'une banque génomique.....	113
8-3. Importance conceptuelle et pratique de la digestion partielle.....	116
8-4. Choix des vecteurs.....	116
8-5. "Marche sur les chromosomes".....	118
8-6. Protocole général du clonage d'un gène eucaryote.....	121
8-7. Comparaison banques cDNA / banques génomiques.....	123
8-8. Informations sur l'ADN.....	125
9° Applications des biotechnologies.....	129
9-1. Identification de nouveaux gènes.....	129
9-2. Caractérisation moléculaire des individus, génotypage.....	132
9-3. Détection d'une mutation ponctuelle.....	135
9-4. Empreintes génétiques humaines.....	138
9-5. Analyse automatisée de fragments d'ADN.....	141
9-6. Recherche de gènes (ou de séquences) apparentés.....	144
9-7. Gènes homologues, orthologues, paralogues.....	147
9-8. Evolution moléculaire.....	150
9-9. Expression des gènes : (Southern, Northern) RT-PCR.....	155
10 Etudes simultanées de milliers de séquences.....	159
Principe général des « puces à ADN ».....	159
10-1. Génomique.....	160
10-2. Transcriptome.....	165
10-3. Méthylome.....	166
10-4. Protéome.....	169
11. Applications pharmaceutiques ou industrielles	
transgène animale.....	171
Conclusion	177