

Sommaire

Avant-propos	7
1. Origine et développements des biotechnologies	9
1-1. Définition du gène	10
1-2. Les biotechnologies.....	12
1-3. Limites des techniques traditionnelles.....	14
1-4. Idée, arme et méthode des biotechnologies.....	15
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 bactériens	29
3-3. Les bactériophages de type lambda (λ).....	31
3-4. Les cosmides	32
3-5. Propriétés des ADN-vecteurs.....	33
4. Outils moléculaires.....	35
4-1. Les enzymes de restriction	35
4-2. La transcriptase réverse.....	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.....	47
5-4. Cartes de restriction	48
5-5. Séquençage.....	51
5-6. Hybridation moléculaire.....	58
5-7. Applications	62
5-8. Les hybridations <i>in situ</i> (« HIS »).....	66
5-9. L'immunohistochimie	70
5-10. La technique de PCR	70

6. ADNc et clones d'ADNc double brin	75
6-1. Synthèse d'un ADNc	75
6-2. Obtention d'un ADNc double-brin (« cDNA »).....	77
6-3. Clonage d'un « cDNA »	78
6-4. Banque de « cDNA »	78
6-5. Utilisations des « cDNA ».....	80
6-6. Identification d'un clone recombinant « cDNA »	83
7. Sondes moléculaires.....	85
7-1. Sondes moléculaires	85
7-2. Nucléotides modifiés et choix du marquage	89
7-3. Utilisations/révélation des sondes chaudes	91
7-4. Utilisation/révélation des sondes froides.....	94
8. Banques génomiques.....	99
8-1. Définition	99
8-2. Construction d'une banque génomique	99
8-3. Importance conceptuelle et pratique de la digestion partielle.....	102
8-4. Choix des vecteurs.....	102
8-5. « Marche sur les chromosomes »	104
8-6. Protocole général du clonage d'un gène eucaryote.....	106
8-7. Comparaison des caractéristiques des banques cDNA et des banques génomiques.....	107
8-8. Informations sur l'ADN.....	109
9. Applications des biotechnologies. Méthodes d'analyse des gènes et de leur expression	113
9-1. Identification de nouveaux gènes	114
9-2. Caractérisation moléculaire des individus : génotypage d'un caractère	116
9-3. Caractérisation moléculaire des individus : détection d'une mutation ponctuelle	119
9-4. Empreintes génétiques humaines. Caractérisation moléculaire des individus.....	121
9-5. Analyse automatisée de fragments d'ADN	124
9-6. Génomique : « puces à ADN »	127
9-7. Recherche de gènes (ou de séquences) apparentés.....	129
9-8. Gènes homologues, gènes orthologues et gènes paralogues.....	134
9-9. Évolution moléculaire.....	137
9-10. Étude de l'expression des gènes	141
Conclusion.....	149