

élément de sécurité en biologie moléculaire

Jean-Claude
David

éléments de sécurité en biologie moléculaire

Médecine-Sciences
Flammarion

Sommaire

PREMIERE PARTIE

GÉNÉRALITÉS SUR LES RISQUES D'ORIGINES BIOLOGIQUE ET PHYSICOCHIMIQUE

Risques d'origine biologique

1. — Rappels généraux sur les vecteurs de clonage	19
1.1 - Vecteurs de clonage	19
1.1.1 - Vecteurs dérivés du phage	19
1.1.2 - Vecteurs plasmidiques	21
1.1.3 - Phage M13	22
1.1.4 - Phagémides	23
1.1.5 - Cosmides	24
1.1.6 - Vecteurs navettes	24
1.1.7 - Vecteurs YAC (<i>yeast artificial chromosome</i>)	24
1.2 - Biologie moléculaire des virus	24
1.2.1 - SV40 (<i>simian virus n° 40</i>) et polyome	25
1.2.2 - Adénovirus	26
1.2.3 - Rétrovirus	27
1.3 - Vecteurs et niveaux de risque	35
1.3.1 - Définition	35
1.3.2 - Types de vecteurs viraux	36
1.3.3 - Classes de risques des vecteurs viraux	36

2. — Niveaux de risques biologiques	15
2.1 - <i>Classes de risques</i>	15
2.2 - <i>Classes de risques 1, 2, 3 et 4</i>	15
2.2.1 - <i>Modes de classement des microorganismes</i>	15
Classification	16
2.2.2 - <i>Niveaux de confinement</i>	16
Centres anti-poisons	16
Risques d'origine physicochimique	
3. — Rappels sur la structure de l'ADN et sur ses modifications biologiques	17
3.1 - <i>Structure moléculaire de l'ADN</i>	17
3.2 - <i>Cycle cellulaire</i>	17
4. — Modifications pathologiques de l'ADN	18
4.1 - <i>Macrolésions</i>	18
4.2 - <i>Microlésions</i>	18
4.3 - <i>Conséquences des lésions de l'ADN au niveau de l'apparition des cancers</i>	19
5. — Substances génotoxiques dans l'environnement général	20
5.1 - <i>Dommages causés à l'ADN</i>	20
5.2 - <i>Réparation des dommages causés à l'ADN</i>	20
5.3 - <i>Substances génotoxiques</i>	20
5.4 - <i>Exemples de facteurs entraînant la génotoxicité</i>	20
5.5 - <i>Risques de cancers professionnels</i>	20
6. — Notions d'immunodéficience	21
6.1 - <i>Immunodéficiences liées au défaut d'anticorps</i>	21
6.2 - <i>Immunodéficiences combinées</i>	21
6.3 - <i>Immunodéficiences associées à d'autres pathologies majeures</i>	21
Index des généralités sur les risques biologiques et physicochimiques	22
<i>(Première partie de l'ouvrage)</i>	22

DEUXIEME PARTIE

ÉVALUATION DES RISQUES BIOLOGIQUES ET PHYSICOCHIMIQUES ET LEURS PRÉVENTIONS

Nous nous fonderons sur les méthodes classiques de Biologie Moléculaire et tenterons, après en avoir brièvement exposé les techniques, d'en exposer les risques principaux en fournissant des éléments de prévention et de protection.

Nous considérons comme prévention les moyens qui permettent de diminuer ou d'annuler les risques biologiques et physicochimiques impliqués par chaque type de manipulation. Nous fournissons, de plus, quelques règles élémentaires à suivre en cas d'accident.

1. — Préparation de l'ADN plasmidique	107
1.1 - Minipréparation	107
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
1.2 - Préparation à plus grande échelle	114
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
1.3 - Purification de l'ADN plasmidique	115
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
2. — Introduction de l'ADN dans les bactéries	122
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	123
<i>Tableau résumé prévention</i>	
3. — Utilisation de vecteurs	125
3.1 - Vecteurs dérivés du phage Λ	125
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
3.2 - Vecteurs de phages filamenteux	126
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	131
<i>Tableau résumé prévention</i>	
4. — Préparation et analyse de l'ADN	132
4.1 - Préparation de l'ADN génomique	132
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
4.2 - Manipulation de l'ADN	135
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	148
<i>Tableau résumé prévention</i>	

5. — Analyse et manipulation de l'ADN, des oligonucléotides et de l'ARN	149
<i>5.1 - Analyse des séquences d'ADN par empreinte et hybridation</i>	<i>149</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>161</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
<i>5.2 - Préparation et analyse de l'ARN</i>	<i>162</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	
<i>5.3 - Protection de la ribonucléase</i>	<i>165</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>168</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
6. — Construction de banques d'ADN recombinant	169
<i>6.1 - Préparation de l'insert ADN à cloner (ADN Génomique)</i>	<i>169</i>
<i>6.2 - Production de l'ADN Génomique et de banques ADNc</i>	<i>171</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>175</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
7. — Manipulation de l'ADN et de l'ARN	176
<i>7.1 - Séquençage de l'ADN</i>	<i>176</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>179</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
<i>7.2 - Mutagénèse dirigée</i>	<i>180</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>183</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
<i>7.3 - Introduction de l'ADN dans des cellules de mammifères</i>	<i>184</i>
<i>Prévention et conduite à tenir PSM</i>	<i>191</i>
<i>Tableau résumé prévention sorbonnes</i>	<i>196</i>
<i>7.4 - Hybridation <i>in situ</i></i>	<i>200</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>207</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
<i>7.5 - Amplification en chaîne par polymérase (PCR)</i>	<i>208</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>214</i>
<i>Tableau résumé prévention</i>	
<i>7.6 - Interaction ADN protéines</i>	<i>215</i>
<i>Prévention et conduite à tenir</i>	<i>216</i>
<i>Tableau résumé prévention "Mobility shift essai"</i>	
<i>Tableau résumé prévention ADNase FOOTPRINTING</i>	<i>217</i>

8. — Gestion et élimination des déchets	221
8.1 - Utilisation des autoclaves de laboratoire de recherche	221
8.2 - Aspects généraux	226
8.3 - Destructions des chlorométhylsilanes	229
8.4 - Eaux et extraits de Javel	229
8.5 - Risques inhérents à la vie au laboratoire (annexe)	230

Les risques spécifiques inhérents à chaque type d'expérience sont exposés dans un tableau au début de chaque chapitre : "Evaluation des risques biologiques et physicochimiques".

Ces risques sont rappelés et des indications pour le traitement et la prévention de ceux-ci sont fournis dans un autre tableau à la fin de chaque chapitre sur les "Eléments de prévention, contrôle du risque et protection".

Index sur l'évaluation des risques biologiques et physicochimiques et leur prévention	233
<i>(Deuxième partie de l'ouvrage)</i>	

Dans une première partie, l'**ANEXES** **TROISIEME PARTIE** de l'ouvrage, sont exposés les principes et les méthodes pour l'évaluation des risques biologiques et physicochimiques de l'expérimentation. Ces méthodes sont adaptées aux différents types d'expériences et aux différents types de risques. Elles sont destinées à aider les chercheurs à évaluer les risques et à prendre les mesures nécessaires pour les réduire. Elles sont également destinées à aider les régulateurs à évaluer les risques et à prendre les mesures nécessaires pour les réduire.

1. — Bibliographie	247
1.1 - Risques biologiques	247
1.2 - Risques chimiques et physicochimiques	251
1.3 - Revues de sécurité et logiciels	256
1.4 - Ouvrages généraux sur le risque technologique	260
2. — Réglementation	264
2.1 - Texte principal	264
2.2 - Texte annexe 1	266
2.3 - Texte annexe 2	269
2.4 - Texte du 4 mai 1994 sur la protection contre le risque biologique	272
2.5 - Arrêté du 18 Juillet 1994 liste des agents biologiques pathogènes	278
2.6 - Directive n° 94/51/CE de la ce concernant le groupe 1	283
2.7 - Décision n° 94/730/CE concernant la dissémination des plantes génétiquement modifiées	284
2.8 - Recommandations de travail pour les agents bactériens aux États-Unis	286

3. – Organismes agréés pour la formation des CHSCT	292
4. – Adresses des formations à la sécurité	314
5. – Adresses concernant la gestion des déchets	332
6. – Glossaire	339
7. – Adresse des principales “culture collections”	385
8. – Centres anti-poisons	386
9. – Arrêté du 13 août 1996 sur les mesures de confinement	389