

**PACES**

Fabienne PERRIN-SCHMITT

2<sup>e</sup> édition

# Biotechnologies et applications

génomique, transcriptome, méthylome,  
protéome, transgénèse animale

**UE 1**

- Les éléments clefs du cours
- Commentaires et conseils de l'enseignant



**La côte de l'ouvrage : 2-660-137**

# Sommaire

Avant-propos.....	7
<b>1° Origine et développements.....</b>	<b>9</b>
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
<b>2° PRINCIPE DU CLONAGE.....</b>	<b>21</b>
2-1. Définition d'un clone.....	21
2-2. Isolement d'un clone.....	21
2-3. Principe du clonage moléculaire.....	22
<b>3° ADN – vecteurs.....</b>	<b>29</b>
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
<b>4° Outils moléculaires.....</b>	<b>35</b>
4-1. Les enzymes de restriction.....	35
4-2. La transcriptase inverse.....	41
4-3. L'ADN ligase.....	43
<b>5° Techniques.....</b>	<b>45</b>
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, Western .....et 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
<b>6° ADNc et clones d'ADNc double brin.....</b>	<b>85</b>
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
<b>7 ° Sondes moléculaires.....</b>	<b>95</b>
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
<b>8° Banques génomiques.....</b>	<b>113</b>
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
<b>9° Applications des biotechnologies.....</b>	<b>129</b>
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
<b>10 Etudes simultanées de milliers de séquences.....</b>	<b>159</b>
Principe général des « puces à ADN ».....	159
10-1. Génomique.....	160
10-2. Transcriptome.....	165
10-3. Méthylome.....	166
10-4. Protéome.....	169
<b>11. Applications pharmaceutiques ou industrielles</b>	
<b>transgène animale.....</b>	<b>171</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>177</b>