

PRINCIPES DE GÉNIE GÉNÉTIQUE

• PRIMROSE • TWYMAN • OLD •

Traduction de la 6^e édition anglaise par Lionel Domenjoud et Raymond Cunin



de boeck

PRINCIPES DE
GÉNIE GÉNÉTIQUE

• PRIMROSE • TWYMAN • OLD •

Les auteurs de cet ouvrage présentent tout d'abord les techniques de base des manipulations de l'ADN dans la bactérie *Escherichia coli*. Ils développent ensuite le clonage dans des organismes de plus en plus complexes tels que les levures et les eucaryotes supérieurs, plantes et animaux. Enfin, ils abordent les applications liées à l'utilisation des technologies de l'ADN recombinant, présentant leur utilité et leurs limites en ce début de XXI^e siècle, sans faire l'impasse sur les protocoles méthodologiques indispensables à la pratique.

La compréhension de la matière est grandement facilitée par un style sobre et efficace, de même que par la présence de nombreuses illustrations telles que :

- des schémas didactiques,
- des encarts théoriques et historiques,
- des tableaux,
- des exemples de résultats expérimentaux.

S'adressant au fil des chapitres à un public de plus en plus expérimenté, les auteurs proposent un très agréable volume qui couvre la matière du master et du doctorat, tout en étant accessible dès la licence.

Cette première édition française est parfaitement d'actualité puisqu'elle intègre la totalité des mises à jour qui ont été apportées à l'édition anglaise depuis sa parution.

Sandy PRIMROSE

Consultant de renommée mondiale en management technologique auprès de plusieurs sociétés, il est également professeur visiteur à l'Université d'Oxford et de Liverpool et l'auteur de nombreuses publications.

Richard TWYMAN

Chercheur en biologie moléculaire à l'Université de Warwick, puis à Cambridge, il se consacre aujourd'hui à la rédaction scientifique et est professeur visiteur à l'Université de York et d'Oxford.

Robert OLD

Chercheur en embryologie et en biologie du développement à l'Université de Warwick, il débute sa carrière en tant que biologiste moléculaire.

Lionel DOMENJOU

Maître de Conférences à l'Université de Nancy 1.

Raymond CUNIN

Professeur à la Vrije Universiteit de Bruxelles et Chargé de cours à l'Université de Mons-Hainaut.

PRIMROSE
ISBN 2-8041-4590-5



BL 321/2

33123

③

PRINCIPES DE



GÉNIE GÉNÉTIQUE

• S. PRIMROSE •

High Wycombe
Buckinghamshire, UK

• R. TWYMAN •

John Innes Centre
Norwich Research Park
Norwich, UK

• R. OLD •

Department of Biological Sciences
University of Warwick
Coventry, UK

Traduction de la 6^e édition anglaise par Lionel Domenjoud (Université de Nancy 1)
et Raymond Cunin (Université de Mons-Hainaut)



de boeck

Table des matières

Avant-propos à l'édition française	vii
Le code génétique et l'alphabet à une lettre des acides aminés	viii
Conversion entre kilobases d'ADN duplex et masse moléculaire	viii
Avant-propos	ix

1 La manipulation génétique : une technologie aux applications innombrables

Introduction	1
L'analyse de séquences	1
La biochimie <i>in vivo</i>	2
De nouvelles approches en médecine	3
La Biotechnologie : naissance d'une industrie	4
Le rôle central d' <i>E. coli</i>	5
Aperçu et mode d'emploi du reste du livre ..	6

2 Les techniques de base

Introduction	8
Les problèmes fondamentaux	8
Les solutions : les techniques de base	8
L'électrophorèse en gel d'agarose	9
Le transfert d'acides nucléiques sur des membranes	11
La transformation d' <i>E. coli</i>	17
La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	19

3 Couper et joindre des molécules d'ADN

Couper des molécules d'ADN	26
Joindre des molécules d'ADN	36

4 Propriétés biologiques des plasmides et des phages utilisés comme vecteurs

La biologie des plasmides et les vecteurs plasmidiques simples	43
La purification de l'ADN plasmidique	48
Propriétés requises des plasmides utilisés comme vecteurs de clonage	49
Le bactériophage λ	53
Clonage dans des vecteurs à ADN monocaténaire	60

5 Cosmides, phasmides et autres vecteurs spécialisés

Introduction	64
Vecteurs pour le clonage de grands fragments d'ADN	64
Vecteurs spécialisés	70
La combinaison des propriétés utiles : les vecteurs polyvalents	84

6 Stratégies de clonage

Introduction	85
Clonage d'ADN génomique	86
Le clonage d'ADNc	92
Stratégies de criblage	101
Clonage par différence	114

7 Séquençage et mutagenèse

Introduction	120
Les techniques de base du séquençage d'ADN	120
Séquençage de génomes entiers	126
L'analyse de données de séquence	126
Changer les gènes : la mutagenèse dirigée	132

8 Clonage dans des bactéries autres qu'<i>Escherichia coli</i>	139
Introduction	139
Introduire l'ADN dans les cellules bactériennes	139
Clonage dans des bactéries Gram-négatives autres qu' <i>E. coli</i>	144
Clonage dans des bactéries Gram-positives	148
La recombinaison homéologue	155
9 Clonage dans <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et dans d'autres champignons	156
Introduction	156
Le devenir de l'ADN introduit dans les champignons	156
Vecteurs plasmidiques pour les champignons	158
Vecteurs du type rétrovirus	159
Expression des gènes clonés	163
Surexpression de protéines dans les champignons	165
Vecteurs spécialisés	166
Présentation à la surface cellulaire de la levure	168
Identification des gènes codant des activités cellulaires spécifiques	171
Détermination des fonctions associées à des gènes particuliers	171
10 Transfert de gènes dans les cellules animales	174
Introduction	174
Transformation par un ADN	174
Le transfert de gènes par transduction virale	187
Résumé des systèmes d'expression dans les cellules animales	189
11 Manipulation génétique des animaux	202
Introduction	202
Manipulation génétique des mammifères	203
Le transfert d'ADN dans d'autres vertébrés	215
Le transfert d'ADN chez les invertébrés	218
12 Le transfert de gènes chez les plantes	221
Introduction	221
Transformation à l'aide d' <i>Agrobacterium</i>	224
Transfert direct d'ADN chez les plantes	237
La transformation <i>in planta</i>	239
La transformation de chloroplastes	240
Les virus de plantes en tant que vecteurs	241
13 Les progrès de la technologie de transgénèse	247
Introduction	247
Systèmes d'expression inductibles	247
Applications de la recombinaison à spécificité de site	253
D'autres stratégies transgéniques pour l'inhibition de gènes	260
La technologie transgénique appliquée à la génomique fonctionnelle	266
14 Les applications de la technologie de l'ADN recombinant	274
Introduction	274
Thème 1 : les séquences d'acides nucléiques en tant qu'outil de diagnostic	274
Thème 2 : de nouveaux médicaments et de nouvelles thérapies pour les maladies génétiques	283
Thème 3 : la lutte contre les maladies infectieuses	283
Thème 4 : le génie protéique	299
Thème 5 : modifications du métabolisme par génie génétique	303
Thème 6 : l'amélioration des plantes au XXI ^e s.	311
Épilogue : des gènes aux génomes	319
Compléments	321
Bibliographie	327
Index	386