

PRINCIPES DE  
GÉNIE GÉNÉTIQUE

• PRIMROSE • TWYMAN • OLD •

Traduction de la 6<sup>e</sup> édition anglaise par Lionel Domenjoud et Raymond Cunin



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 $\lambda$ .....	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

<b>8 Clonage dans des bactéries autres qu'<i>Escherichia coli</i></b> .....	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
<b>9 Clonage dans <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et dans d'autres champignons</b> .....	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
<b>10 Transfert de gènes dans les cellules animales</b> .....	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 .....	199
<b>11 Manipulation génétique des animaux</b> .....	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
<b>12 Le transfert de gènes chez les plantes</b> .....	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
<b>13 Les progrès de la technologie de transgénèse</b> .....	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
<b>14 Les applications de la technologie de l'ADN recombinant</b> .....	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 .....	293
Thème 4 : le génie protéique .....	299
Thème 5 : modifications du métabolisme par génie génétique .....	303
Thème 6 : l'amélioration des plantes au XXI <sup>e</sup> s. ....	311
Épilogue : des gènes aux génomes .....	319
<b>Compléments</b> .....	321
<b>Bibliographie</b> .....	327
<b>Index</b> .....	386

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<sup>e</sup> 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 débuta sa carrière en tant que biologiste moléculaire.

**Lionel DOMENJOUR**

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

