

Sommaire

Préface à la troisième édition	XV
Préface à la deuxième édition	XVII
Avant-propos à la troisième édition	XIX
Avant-propos à la deuxième édition	XXI
Avant-propos à la première édition	XXIII

Chapitre 1. Biologie moléculaire et médecine : un panorama	1
Les étapes d'une révolution biologique	1
L'impact médical de la génétique moléculaire	5
La conquête des génomes	7
Perspectives « post-génomiques »	8

Première partie Les concepts de base

Chapitre 2. Le génome des eucaryotes : le stockage de l'information	25
La double hélice	25
Le DNA est considérablement compacté dans le noyau	28
La vie cellulaire suit un rythme : notion de cycle cellulaire	33
Le matériel génétique des eucaryotes est en très large excès	37
Une petite fraction du DNA est extranucléaire : le DNA mitochondrial	50

Chapitre 3. Constance et variation du DNA	53
La constance du DNA résulte de deux processus : la réplication et la réparation	53
Les variations du DNA : mutations, recombinaisons, transpositions	79

Chapitre 4. Du gène à la protéine	87
La RNA polymérase I transcrit les RNA des ribosomes	88
Maturation des RNA ribosomiaux et formation du ribosome sont liées	88
Le rôle principal de la RNA polymérase II est de transcrire les RNA messagers	91
Les transcrits subissent une maturation nucléaire qui débute immédiatement après l'initiation de la transcription	93
La RNA polymérase III transcrit les petits RNA : tRNA, RNA 5S... ..	102
Du RNA à la chaîne polypeptidique : la traduction	104

Un signal d'adressage indique la destination de la protéine	111
Les protéines peuvent subir des modifications post-traductionnelles	112
Chapitre 5. La régulation de l'expression des gènes. Différenciation et embryologie moléculaire	117
Rappel du modèle procaryotique	118
Les opérons inductibles codent des enzymes de la voie catabolique	118
L'anabolisme fait appel à des opérons répressibles	119
Un système modulateur d'expression : l'atténuation	120
Régulation par inversion de séquences de DNA	120
Vers la connaissance des mécanismes chez l'homme : les systèmes eucaryotes	121
L'environnement chromatinien des gènes actifs	121
Régulation par modification de la structure primaire du DNA	130
La régulation transcriptionnelle	142
La régulation post-transcriptionnelle	154
La régulation traductionnelle	164
Le dernier niveau de régulation possible est le niveau post-traductionnel	166
Les mécanismes moléculaires de l'embryogenèse	166
Le développement précoce : les gènes à effet maternel	168
Les gènes zygotiques de segmentation définissent une série de régions	170
Les gènes homéotiques définissent l'identité finale de chaque segment	173
Le modèle de la drosophile peut être extrapolé aux autres organismes	174
Un modèle de différenciation : la myogenèse	177
Chapitre 6. Virus des eucaryotes et biologie moléculaire	185
Les virus sont des organismes incomplets et parasites	185
SV40 et polyome, deux papovavirus à pouvoir transformant	185
Les adénovirus	188
Les rétrovirus	189
Le virus de l'hépatite B (HBV)	200
Le virus de l'hépatite C (HCV)	202

Deuxième partie

Biologie moléculaire et pathologie

Chapitre 7. Bases de l'exploration du génotype	209
Pourquoi analyser le génotype ?	209
Bases moléculaires du phénotype	209
Comment analyser le génotype ?	210
Le DNA peut être analysé au niveau des chromosomes métaphasiques	220
Le DNA mitochondrial	220
Le DNA des organismes exogènes	220
Une approche globale : l'exploration de l'ensemble des produits d'expression du génome	221
Chapitre 8. Les polymorphismes du DNA	223
Les polymorphismes du DNA sont des marqueurs génotypiques	223
Les différents types de polymorphismes	225
L'exploitation des polymorphismes du DNA	233
Chapitre 9. Génomique	239
Introduction à la génomique : un champ nouveau de la biologie	239
Première phase : les cartes du génome	242
Principes généraux de la cartographie du génome humain	242

La cartographie génétique	244
La cartographie physique	248
Les différentes cartes du génome	254
Deuxième phase : l'acquisition des séquences des génomes	256
Le double défi du projet HGP	256
La réalisation : le grand séquençage	257
Le séquençage du génome humain	262
Les recherches en génomique ne se limitent pas à la simple reconstitution du puzzle de la séquence brute	266
Troisième phase : l'exploitation du génome	266
L'impact cognitif : génomique et biologie	267
La génomique in silico : une gestion de la complexité	281
Interroger les bases de données génomiques	281
L'organisation du travail in silico	282
Génomique mode d'emploi : quelques scénarios d'utilisation	286
Perspectives	289
Chapitre 10. Pathologie spontanée et expérimentale du DNA génomique	293
Pathologie spontanée du génome humain	293
La très riche palette des mutations	294
Une ou plusieurs mutations ? Un ou plusieurs gènes ?	313
De la mutation à la maladie : pas de relation simple	320
Pathologie expérimentale du DNA génomique	323
Les stratégies de pathologie génique expérimentale	324
L'exploitation des modèles animaux de pathologie génique	328
Les autres utilisations de la transgénèse	331
Chapitre 11. Le diagnostic génotypique	335
Les principes du diagnostic génotypique	335
Le diagnostic génotypique dans son contexte médical	346
DNA et médecine légale : l'identification des individus par le génotype	356
Chapitre 12. Gènes et maladies	363
La part des gènes	363
Du phénotype au génotype	364
Le concept de gène de maladie	364
La quête des gènes de maladies monogéniques	365
Quelques maladies monogéniques à titre d'exemple	379
Le modèle des maladies de l'hémoglobine	379
Bases moléculaires des maladies par pathologie du gène <i>CFTR</i> (mucoviscidose et autres)	393
Myopathies de Duchenne et de Becker : le concept de dystrophinopathies	401
Les maladies par instabilité de séquences répétées	416
Les maladies mitochondriales	427
Complexité des maladies mitochondriales	427
Le génome mitochondrial et sa pathologie	428
L'exploration moléculaire des anomalies du génome mitochondrial	431
Vers les gènes des maladies à déterminisme complexe	433
Les maladies communes	433
Bases moléculaires de la notion de terrain	439
Les maladies dues à d'autres pathologies génomiques	443
Du génotype au phénotype : au-delà de Mendel	447
Il n'y a pas de relation univoque entre pathologie génique et symptomatologie	447
L'impact sur la pratique médicale	454

Chapitre 13. DNA et cancers	465
Les bases moléculaires de l'oncogenèse	466
Comment l'oncologie est devenue moléculaire	466
Les gènes de cancer et leur pathologie	485
Les voies du cancer : une tentative d'organisation des connaissances	497
Biologie moléculaire et cancérologie médicale	504
Vers une sémiologie moléculaire des cancers	504
Les cancers d'origine virale	506
Les cancers héréditaires	506
Les cancers hématologiques	506
Deux cancers solides à titre d'exemple : côlon, sein	512
Les bases moléculaires des traitements en oncologie	514
Perspectives	520
 Chapitre 14. Pathologie due à des génomes exogènes	537
Un cahier des charges du diagnostic génotypique des bactéries, virus, parasites,	537
Considérations techniques	537
Quelques exemples d'application pratique	540
 Chapitre 15. Gènes et thérapies	547
L'évolution du concept de thérapie génique : du transfert de « DNA médicament » aux thérapies dérivées de la connaissance des gènes	547
La thérapie génique de première génération : le transfert de gènes	548
Préalables généraux	549
Problèmes méthodologiques	549
L'expérimentation préclinique	558
Le passage à l'homme	560
Thérapies ciblées dérivées de la connaissance des gènes	567
Agir sur le génome	567
Les manipulations thérapeutiques de l'épigénome	570
Les interventions thérapeutiques sur les transcrits	570
Agir sur le protéome	575
Perspectives	577
 Chapitre 16. Biologie moléculaire et société	585
La situation créée par l'accès aux gènes et au génome	585
Les implications éthiques de l'accès au génome humain	587
L'encadrement de la génétique moléculaire médicale	588
Quelques faits de société	590

Troisième partie

Les outils du génie génétique

Chapitre 17. Le matériel biologique et les techniques générales de biologie moléculaire	597
Le matériel biologique	597
Techniques générales utilisées en biologie moléculaire	599
 Chapitre 18. Les techniques d'amplification élective in vitro (PCR, etc.)	607
La technique PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	607
Les techniques d'amplification isotherme NASBA® (<i>Nucleic Acid Sequence Based Amplification</i>) et TMA® (<i>Transcription Mediated Amplification</i>)	617
La LCR (<i>Ligase Chain Reaction</i>)	618

L'amplification des RNA : le système de la Q β réplicase (amplification de sonde)	618
Le DNA branché (bdNA) permet une amplification du signal (Quantiplex [®])	619
Chapitre 19. Les outils enzymatiques du génie génétique	623
Les enzymes de restriction	623
Les méthylases du DNA bactérien	625
Applications particulières des enzymes de restriction	625
Autres enzymes d'usage courant en biologie moléculaire	627
Chapitre 20. L'hybridation moléculaire	631
Notion de température de fusion du DNA	631
Notion d'hybridation	633
Hybridation en phase liquide	634
Hybridation sur support solide	634
Hybridation in situ	635
Chapitre 21. Les vecteurs : plasmides, phages, cosmides, YAC, BAC, PAC, virus...	637
Les plasmides	638
Les phages	645
Les autres types de vecteurs	653
Les chromosomes artificiels	654
Chapitre 22. Les sondes et leur marquage	661
Le concept de sonde	661
Les stratégies de marquage	661
L'agent de marquage	665
Chapitre 23. Le clonage moléculaire	667
Les banques génomiques	667
Les banques de cDNA	669
La recherche du clone contenant le recombinant désiré : le criblage	671
Le clonage après PCR	676
Le clonage des cDNA des partenaires d'une protéine	676
Le clonage des facteurs protéiques reconnaissant une séquence nucléotidique cible : la technique simple hybride	677
Chapitre 24. Les micro- et nanotechnologies : puces, laboratoires sur puce, etc.	679
Les puces et les micro-arrays	680
Quelques microtechnologies originales	683
Les microtechnologies permettent de créer des laboratoires sur des puces (<i>lab on a chip</i>)	684
Les premiers pas des nanotechnologies	685
Les systèmes et les puces du futur	685
Chapitre 25. Détermination de la séquence d'un acide nucléique	689
Les techniques manuelles	689
Les techniques automatisées	692
Chapitre 26. Analyse du génome et de ses modifications	699
Visualisation d'une portion du génome : la méthode de Southern	699
Applications de la méthode de Southern	701
La mise en évidence des mutations étendues	704
La mise en évidence des mutations ou des variations ponctuelles de séquence	705

Chapitre 27. Analyse de l'expression des gènes (régulations, transcriptome, protéome, etc.)	721
Analyse qualitative des transcrits	721
Analyse quantitative des transcrits	728
Analyse de la transcription in vitro	728
Analyse des mécanismes de régulation de l'expression des gènes	729
Traduction in vitro et production de protéines recombinantes	734
Analyse des protéines : la protéomique	735
Chapitre 28. Les techniques de modification du matériel génétique ou de son expression	745
Modification in vitro d'une portion de séquence	746
Constructions permettant de mettre en évidence les effets des modifications apportées	748
Les vecteurs utilisés pour le transfert ex vivo et in vivo du matériel génétique	749
Transfert ex vivo du matériel génétique	752
Transfert et modification in vivo du matériel génétique	754
La RNAi (RNA interférence) peut être utilisée comme outil pour éteindre l'expression d'un gène : le « <i>knock-down</i> »	762
Chapitre 29. Informatique et biologie moléculaire	765
L'équipement pour utiliser l'outil informatique	765
La communication avec l'extérieur	766
Les utilisations d'Internet en biologie moléculaire	767
Glossaire	771
Index	791