

BIOTECH.INFO

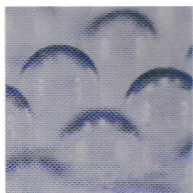
Alain Bernot

Analyse de Génomes, Transcriptomes et Protéomes

3^e édition

DUNOD

Alain Bernot



3^e édition

ANALYSE DE GÉNOMES, TRANSCRIPTOMES ET PROTÉOMES

Depuis 1990, le développement de *Programme Génome* a mené à l'établissement de cartes génétiques et physiques, et au séquençage complet de génomes de représentants des principaux groupes du vivant. Celui de l'homme demeure aujourd'hui partiel mais sera probablement obtenu d'ici 2003. Parallèlement, sont développés des programmes d'analyse de la transcription (transcriptome) et de la traduction (protéome) chez les organismes modèles ainsi que chez l'homme.

Cet ouvrage fait le point sur l'ensemble des travaux déjà réalisés. Il anticipe sur l'ampleur des découvertes à venir et sur leurs retombées en biologie fondamentale et en médecine.

Il s'adresse aux étudiants en 1^{er} et 2^e cycles de biologie ou de médecine. Il sera également très utile aux candidats préparant les concours d'aptitude à l'enseignement (CAPES et Agrégation), ainsi qu'à toute personne (chercheurs, ingénieurs, techniciens...) souhaitant avoir une vue d'ensemble de ces disciplines.

ALAIN BERNOT

est ancien élève de l'École Normale Supérieure, agrégé, docteur en Sciences, et professeur à l'université d'Évry. Il dirige actuellement au Génoscope (Évry) une équipe consacrée au séquençage d'un génome de Vertébré (*Tetraodon nigroviridis*).

MATHÉMATIQUES

PHYSIQUE

CHIMIE

SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

INFORMATIQUE

SCIENCES DE LA VIE

SCIENCES DE LA TERRE



ISBN 2 10 005637 9

BIOTECH.INFO

<http://www.dunod.com>

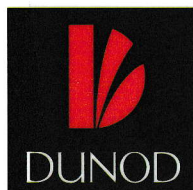


Table des matières

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 • GÉNÉRALITÉS	3
1.1 Rappels de génétique moléculaire	4
1.1.1 Les acides nucléiques	4
1.1.2 Constitution du génome	4
1.1.3 Le génome des organites	6
1.1.4 Structure des gènes	7
1.1.5 Transcription et traduction	8
1.1.6 Gènes, familles multigéniques, et séquences apparentées	9
1.1.7 Les fractions codante et non codante du génome	10
1.2 Les outils utilisés en biologie moléculaire	11
1.2.1 Enzymes de restriction et électrophorèse	11
1.2.2 Clonage et construction de banques	12
1.2.3 Techniques d'hybridation	12
1.2.4 Amplification enzymatique (PCR)	16
1.2.5 Séquençage d'ADN et analyse de séquence	17
1.2.6 Assignation chromosomique	20
1.2.7 Techniques spécifiques des analyses génomiques	21

1.3	Les spécificités des programmes génome	22
1.3.1	La mise en place des programmes génome	22
1.3.2	Les centres de recherche sur le génome	25
1.3.3	L'importance croissante de l'informatique	25
1.3.4	Automatisation et robotique	26
1.4	Les espèces analysées	26
1.4.1	Les grands embranchements du vivant	26
1.4.2	Les Procaryotes	27
1.4.3	Les Eucaryotes	29
 CHAPITRE 2 • LES CARTES DE LIAISON		35
2.1	Outils et méthodes de la cartographie génétique	36
2.1.1	Les cartes génétiques, de la drosophile à l'homme	36
2.1.2	Les outils de la cartographie génétique chez l'homme	38
2.1.3	Les marqueurs RFLP	38
2.1.4	Les microsatellites	40
2.1.5	Méthode de cartographie	42
2.2	Le développement des cartes génétiques	42
2.2.1	Les RFLP et les premières cartes génétiques	42
2.2.2	Les microsatellites et les cartes actuelles	45
2.2.3	Les progrès de la carte génétique humaine	45
2.2.4	Les cartes génétiques chez les espèces modèles et domestiques	46
2.2.5	Taille des cartes génétiques	49
2.3	Les cartes d'hybrides d'irradiation	49
2.3.1	Principe des cartes d'hybrides d'irradiation	49
2.3.2	L'établissement des cartes d'hybrides d'irradiation	51
2.3.3	Les premières cartes	51
2.3.4	Taille des cartes	52
2.4	Conclusion	52
 CHAPITRE 3 • LES CARTES PHYSIQUES		53
3.1	Les cartes locales, ou de petits génomes	54
3.1.1	Les outils de cartographie	54
3.1.2	La carte physique des espèces modèles	54
3.1.3	Les cartes locales chez l'homme	57

3.2 Les stratégies de la cartographie physique du génome humain	57
3.2.1 L'approche chromosome-spécifique	57
3.2.2 L'approche génome-entier	58
3.2.3 La cartographie par STS	60
3.2.4 La cartographie de restriction	61
3.2.5 La cartographie par hybridation	61
3.3 Les cartes du génome humain	63
3.3.1 La carte CEPH/Généthon	63
3.3.2 La carte WI/MIT	64
3.3.3 La cartographie chromosome-spécifique	65
3.4 Conclusion	67
 CHAPITRE 4 • LE SÉQUENÇAGE DE GÉNOMES	 69
4.1 Les choix stratégiques	70
4.1.1 Approches utilisées pour le séquençage à grande échelle	70
4.1.2 Stratégies de séquençage	70
4.1.3 Organismes séquencés	73
4.1.4 Identification des gènes	75
4.2 Génomes procaryotes	77
4.2.1 Structure chromosomique	77
4.2.2 Organisation des gènes	78
4.2.3 Gènes remarquables	81
4.2.4 Virulence	84
4.2.5 Séquences non codantes	85
4.2.6 Génomique comparative	88
4.3 Génomes des modèles eucaryotes	90
4.3.1 Structure des chromosomes	90
4.3.2 Identification des gènes	91
4.3.3 Fonctions des gènes reconnus ou prédits	94
4.3.4 Gènes spécifiques des Métazoaires	95
4.3.5 <i>Arabidopsis thaliana</i>	96
4.3.6 Homologues de gènes responsables de maladies chez l'homme	99
4.3.7 Régions non codantes	99
4.3.8 Génomique évolutive	100
4.4 Génome humain	102
4.4.1 Les chromosomes humains	102

4.4.2	Identification des gènes	104
4.4.3	Séquences répétées	108
4.4.4	Évolution	110
4.5	Conclusion	110
 CHAPITRE 5 • SÉQUENÇAGE D'ADNc ET TRANSCRIPTOME		113
5.1	Stratégies du séquençage d'ADNc	114
5.1.1	Position du problème	114
5.1.2	Production et séquençage d'ADNc	114
5.1.3	Choix du tissu d'origine	116
5.1.4	Le séquençage d'ADNc à grande échelle	117
5.2	Les enjeux économiques	117
5.2.1	La protection des données	117
5.2.2	L'implication de grandes compagnies pharmaceutiques	118
5.2.3	Le « monnayage » des séquences partielles	118
5.2.4	La course aux ADNc	119
5.3	L'analyse des séquences ADNc	120
5.3.1	L'assemblage de séquences partielles	120
5.3.2	Identification de nouveaux gènes	121
5.3.3	Séquençage massif et vision globale de la physiologie cellulaire	121
5.3.4	Les programmes ADNc chez les espèces animales ou végétales	123
5.4	L'utilisation des séquences ADNc	124
5.4.1	La carte transcriptionnelle du génome humain	124
5.4.2	Identification de gènes responsables de maladies génétiques	124
5.5	Le transcriptome	125
5.5.1	Analyses classiques	125
5.5.2	Utilisation de puces nucléiques	126
5.5.3	La technique SAGE	134
5.6	Conclusion	136
 CHAPITRE 6 • PROTÉOME		139
6.1	Techniques de bases	140
6.1.1	Électrophorèse	140
6.1.2	Chromatographies	142

6.1.3	Ultracentrifugation	142
6.1.4	Utilisation d'anticorps	144
6.1.5	Fusions avec la glutathione S-transférase	147
6.1.6	Informatique	147
6.2	Études par transgénèse	149
6.2.1	Transgénèse chez la souris	150
6.2.2	Exemples d'analyse d'organismes transgéniques	152
6.2.3	Transgénèse chez d'autres espèces	153
6.3	Mutagenèse	156
6.3.1	Mutagenèse dirigée	156
6.3.2	Mutagenèse dirigée chez la souris	159
6.3.3	Exemples de knock-out chez la souris	160
6.3.4	Mutagenèse aléatoire	162
6.4	Électrophorèse bidimensionnelle et identification des protéines	164
6.4.1	Séparation des protéines par électrophorèse 2D	165
6.4.2	Identification des protéines par des techniques classiques	166
6.4.3	Identification des protéines par spectrométrie de masse	167
6.4.4	Exemples d'utilisations	173
6.5	Identification des interactions protéiques par double-hybride	174
6.5.1	Stratégie	174
6.5.2	Interactions protéine-protéine	178
6.5.3	Interactions protéines-ARN	180
6.5.4	Approches globales	180
6.6	Analyse de la structure tridimensionnelle	182
6.6.1	Cristallographie	182
6.6.2	Résonance magnétique nucléaire	183
6.6.3	Structures des protéines	183
6.6.4	Exemple : les antigènes d'histocompatibilité	184
6.7	Conclusion	186
CHAPITRE 7 • IDENTIFICATION DE GÈNES RESPONSABLES DE MALADIES		189
7.1	Les maladies génétiques	189
7.1.1	Maladies monogéniques et multifactorielles	189
7.1.2	Les mutations	191
7.1.3	Le clonage de gènes responsables de maladies	193

7.2	Clonage fonctionnel et anomalies chromosomiques	194
7.2.1	Exemples de clonage fonctionnel	194
7.2.2	Anomalies chromosomiques	196
7.2.3	Maladies mitochondriales	197
7.3	La stratégie du clonage positionnel	198
7.3.1	Recrutement de familles atteintes	198
7.3.2	Carte génétique et localisation primaire	198
7.3.3	Carte physique	198
7.3.4	Identification des gènes présents sur un intervalle de localisation, et du gène morbide	200
7.3.5	Les premiers succès du clonage positionnel	200
7.4	Quel avenir pour le clonage de gènes responsables de maladies ?	201
7.4.1	Les maladies monogéniques	201
7.4.2	Les maladies multifactorielles	203
7.4.3	Séquençage	204
7.4.4	Vers une redéfinition d'un certain nombre de maladies génétiques	204
7.4.5	De nouveaux mécanismes mutationnels	206
7.4.6	Maladies génétiques et thérapies	209
7.5	Conclusion	211
	CONCLUSION GÉNÉRALE	212
	BIBLIOGRAPHIE	213
	INDEX	215