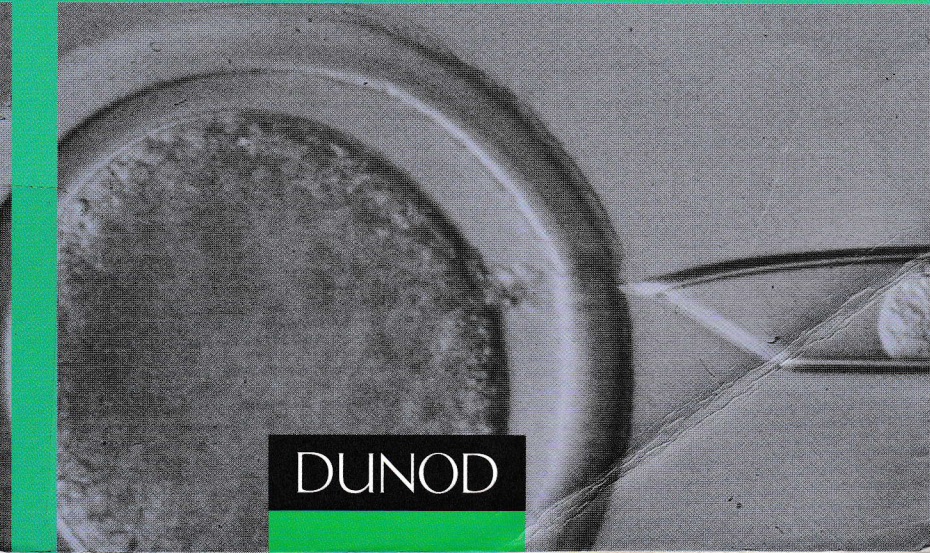




BIOTECH.INFO

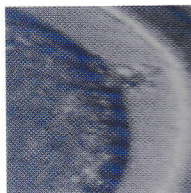
Jean-Louis Serre et coll.

Les Diagnostics Génétiques



DUNOD

Jean-Louis Serre et coll.



LES DIAGNOSTICS GÉNÉTIQUES

Outre de vastes progrès en recherche fondamentale, le génie génétique a ouvert la voie à de nouvelles techniques aux nombreuses applications pour l'Homme et son environnement.

Le but de cet ouvrage est d'exposer de manière simple et exhaustive les principales technologies de la biologie moléculaire et leurs applications : les diagnostics génétiques, notamment prénatals pour les pathologies majeures, le diagnostic et la recherche en cancérologie ou en neurologie, le diagnostic des maladies infectieuses bactériennes ou virales, la traçabilité des OGM, la médecine légale avec les empreintes génétiques pour la recherche en paternité ou l'identification criminelle.

Ce livre s'adresse à un large public : les étudiants en premiers et seconds cycles des études scientifiques ou médicales, les enseignants de SVT qui doivent désormais enseigner les rudiments de la biologie moléculaire du gène en terminale, mais aussi tous les esprits curieux et éclairés.

De grands spécialistes de ces questions ont participé à cet ouvrage coordonné par Jean-Louis SERRE : Catherine BOILEAU, Nevine BOUTROS, Anne CASETTA, Denis COINTE, Véronique DAVID, Annick DIOLEZ, Emmanuelle GIRODON, Liliane KEROS, Éric LE GUERN, Jean-Paul MOISAN, Étienne MORNET, Olivier PASCAL, Véronique PINGAUD, Serge PISSARD, Brigitte SIMON-BOUY, Dominique STOPPA-LYONNET.



9 782100 055999

ISBN 2 10 005599 2

BIOTECH.INFO

<http://www.dunod.com>

MATHÉMATIQUES

PHYSIQUE

CHIMIE

SCIENCES DE L'INGÉNIEUR

INFORMATIQUE

SCIENCES DE LA VIE

SCIENCES DE LA TERRE



Table des matières

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 • TECHNIQUES ET OUTILS PRINCIPAUX DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE APPLIQUÉE AUX DIAGNOSTICS GÉNÉTIQUES	5
1.1 Les acides nucléiques	5
1.2 Les différents types de matériel génétique étudié	8
1.2.1 Les sources et les types d'ADN	8
1.2.2 Les ARN et l'ADNc	9
1.3 Les outils enzymatiques du traitement de l'ADN <i>in vitro</i>	11
1.4 Fragmentation de l'ADN et étude des fragments	14
1.4.1 Fragmentation de l'ADN	14
1.4.2 Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse et transfert sur membrane	15
1.5 Amplification élective d'une séquence d'acide nucléique	20
1.5.1 Amplification d'une séquence d'ADN par PCR	20
1.5.2 Amplification d'ARN sous forme d'ADNc par RT-PCR	25
1.5.3 Méthodes de PCR quantitatives	25
1.5.4 Amplification isotherme d'ARN ou d'ADN par NASBA®	28

1.6	Ligation de fragments d'ADN : ADN recombinant et clonage	3
1.6.1	Action des ligases	3
1.6.2	ADN recombinant	3
1.6.3	Clonage d'ADN	3
1.6.4	Clonage des produits de PCR	3
1.7	Séquençage d'un fragment d'ADN	3
1.7.1	Principe de la méthode Sanger : la réaction de séquence	3
1.7.2	Lecture des produits de la réaction de séquence	3
1.8	Modifier la séquence d'un fragment d'ADN : mutagenèse dirigée	4
1.9	Techniques d'hybridation moléculaire et applications	4
1.9.1	Introduction	4
1.9.2	Sondes, marquages et révélation du signal	4
1.9.3	FISH et PCR- <i>in situ</i>	4
1.9.4	Méthodes de détection et de dosage par amplification de signal	4
1.9.5	Hybridation d'un <i>Southern blot</i>	4
1.9.6	Techniques ASO : <i>dot blot</i> et <i>reverse dot blot</i>	4
1.9.7	Techniques ARMS, OLA	4
1.9.8	Définition, analyse des RFLP et applications	4
1.9.9	VNTR et microsatellites	4
1.9.10	Marqueurs SNP	4
1.10	Autres techniques d'étude de la diversité allélique	4
1.10.1	Introduction	4
1.10.2	La méthode SSCP	4
1.10.3	La méthode DGGE	4
1.10.4	Recherche de polymorphismes par DHPLC	4
1.10.5	Le test de troncature protéique (PTT)	4

CHAPITRE 2 • LES DIAGNOSTICS DE MALADIES HÉRÉDITAIRES

2.1	Introduction	
2.1.1	Les différentes classes de mutations	
2.1.2	La dominance et la récessivité sont explicitées par la pathologie moléculaire	
2.1.3	L'hétérogénéité génétique est explicitée par la pathologie moléculaire	

32	2.2	Diagnostics représentatifs de maladies autosomiques	75
32	2.2.1	La mucoviscidose	75
32	2.2.2	L'hémochromatose	97
32	2.2.3	Thalassémies et drépanocytose	105
35	2.3	Diagnostics représentatifs de maladies liées au chromosome X	119
35	2.3.1	Le syndrome de l'X fragile	119
35	2.3.2	Diagnostic génétique des hémophilies A et B	130
38	2.3.3	Diagnostic moléculaire des myopathies de Duchenne et de Becker	140
42	2.4	Les maladies neurodégénératives	155
42	2.4.1	Introduction	155
42	2.4.2	Les maladies neurodégénératives à polyglutamines	156
43	2.4.3	Physiopathologie des affections à polyglutamines	162
46		Références	166
47	CHAPITRE 3 • DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE EN CANCÉROLOGIE		167
48	3.1	Introduction générale	167
50	3.2	Les voies cellulaires cibles du processus tumoral	168
54	3.3	Nature des altérations génétiques de la cancérogenèse	171
57	3.3.1	Introduction	171
62	3.3.2	Les mutations activatrices	171
63	3.3.3	Les mutations inactivatrices	172
63	3.4	Origine des altérations : le rôle des gènes de réparation	172
63	3.5	Apport des études moléculaires à la prise en charge des patients	174
64	3.6	Prédisposition génétique aux cancers	176
65	3.6.1	Introduction	176
66	3.6.2	Les prédispositions génétiques aux cancers identifiées à l'heure actuelle	178
67	3.7	Les tests génétiques de prédisposition aux cancers	181
69	3.7.1	Introduction	181
69	3.7.2	Aide à la prise en charge des personnes à risque : les néoplasies endocriniennes multiples de type 2	184
70	3.7.3	Certains tests génétiques sont d'un intérêt très limité : la recherche d'une mutation constitutionnelle du gène TP53	184
71	3.7.4	Test génétique moléculaire de la prédisposition au cancer du sein par la recherche de mutations des gènes BRCA	186

3.8 Conclusions et perspectives	189
Références	191
CHAPITRE 4 • LES APPLICATIONS DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE À LA CYTOGÉNÉTIQUE	193
4.1 Introduction	193
4.2 Diagnostic moléculaire des anomalies du nombre des chromosomes	194
4.2.1 Introduction	194
4.2.2 Diagnostic par hybridation <i>in situ</i> fluorescente	194
4.2.3 Diagnostic par biologie moléculaire	195
4.3 Microdélétions chromosomiques	203
4.3.1 Introduction	203
4.3.2 Mécanismes de survenue des microdélétions ou microduplications	203
4.3.3 Méthodes de détection des microdélétions chromosomiques	204
4.4 Disomies uniparentales	206
4.5 Conclusions et perspectives	210
Références	211
CHAPITRE 5 • DÉPISTAGE ET IDENTIFICATION DES AGENTS PATHOGÈNES OU EXOGÈNES	213
5.1 Virologie clinique	213
5.1.1 Introduction	213
5.1.2 Les méthodes classiques d'analyse des infections virales	214
5.1.3 Méthodes d'analyses des infections virales par biologie moléculaire	217
5.1.4 Conclusion	229
Références	230
5.2 Bactériologie clinique	230
5.2.1 Introduction	230
5.2.2 La taxonomie bactérienne	231
5.2.3 Le diagnostic bactériologique	232
5.2.4 Détection moléculaire de la résistance aux antibiotiques	235
5.2.5 Le typage bactérien	236
Références	241

5.3	La détection des OGM	242
5.3.1	Qu'est-ce qu'un OGM?	242
5.3.2	La réglementation	243
5.3.3	La détection des OGM et de leurs produits dérivés	245
5.3.4	L'harmonisation des méthodes d'analyses	252
5.3.5	Conclusion	252
	Références	253
 CHAPITRE 6 • L'IDENTIFICATION PAR EMPREINTES GÉNÉTIQUES		 255
6.1	Introduction	255
6.2	Empreintes génétiques par analyse de l'ADN nucléaire	255
6.2.1	Les bases moléculaires et techniques de la réflexion scientifique	256
6.2.2	Les bases mathématiques de la réflexion scientifique	264
6.2.3	Les applications	266
6.2.4	Un cas particulier : les séquences du chromosome Y	270
6.3	Empreintes génétiques sur l'ADN mitochondrial	271
6.3.1	Introduction	271
6.3.2	Les caractéristiques particulières de l'ADN mitochondrial	272
6.3.3	Utilité de l'ADN mitochondrial	272
6.3.4	Méthodes et techniques	273
6.3.5	L'hétéroplasmie	275
6.3.6	Applications à l'identification des cadavres	276
6.3.7	Applications à l'identification des cheveux	278
6.3.8	Applications à la discrimination entre Homme et animal, ou entre animaux	278
6.3.9	Conclusion	279
6.4	La société face à la question des fichiers d'empreintes génétiques	279
6.4.1	Introduction en forme d'expérience	279
6.4.2	Création et gestion de fichiers d'empreintes génétiques	280
6.5	Conclusion	282
	Références	282

CHAPITRE 7 • GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE ET DES POPULATIONS	283
7.1 Le modèle de Hardy-Weinberg et la mesure de la diversité génétique	283
7.1.1 Analyse des maladies récessives	284
7.1.2 Analyse des maladies dominantes	287
7.1.3 Analyse des maladies liées au sexe	289
7.2 Polyallélisme et taux d'informativité	290
7.3 Équilibre sélection-mutation et règle de Haldane	292
7.4 Du diagnostic au dépistage génétique : la mucoviscidose, cas d'école	293
7.5 Le déséquilibre gamétique	298
7.5.1 Fréquences alléliques et fréquences gamétiques	298
7.5.2 Équilibre et déséquilibre gamétique	299
7.5.3 Génèse d'un déséquilibre gamétique	299
7.5.4 Évolution d'un déséquilibre gamétique et définition du déséquilibre de liaison	302
Références	303
INDEX	305