

SÉMINAIRE
INSERM

Vol. 128

Cours Pratique de Génie Génétique

INSERM — Institut Pasteur

Clonage d'un cDNA dans Escherichia coli

par

Jean Weissenbach

Colin Bishop

Marie-Annick Buendia

EN

07

9/01

EDITIONS
INSERM



LES EDITIONS
INSERM 

1986
ISBN 2-85598-299-5

Prix : 65 F

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.....	7
Synthèse de cDNA	9
• Synthèse du premier brin	11
• Synthèse du second brin.....	12
Représentativité d'une population de fragments clonés	15
• Bibliothèque ou banque de clones	17
• Interactions entre séquences clonées et cellules hôtes	17
• Représentativité d'une banque de cDNA	17
Vecteurs de clonage.....	19
Construction de vecteurs chimériques et clonage	23
• Construction de plasmides recombinants	25
• Construction de phages recombinants	27
Identification d'un clone recombinant	33
• Criblage par hybridation <i>in situ</i>	35
• Procédés d'hybridation-sélection	36
• Identification par expression	37
Protocoles	39
Synthèse d'un premier brin de cDNA.....	41
Synthèse d'un second brin de cDNA	42
Fractionnement du cDNA double-brin	43
Construction de plasmides recombinants	44
Construction de phages recombinants.....	46
Transformations d'E. coli.....	48
Encapsidation <i>in vitro</i>	49
Étalement des phages et sélection des recombinants	50
Criblage des clones bactériens par hybridation <i>in situ</i>	51
Criblage des clones phagiques par hybridation <i>in situ</i>	53
Préparation d'une sonde par nick-translation	54
Préparation rapide de plasmides	55
Préparation rapide de phages	56
Electrophorèses en gel	57
Préparation de plasmides.....	59
Préparation du phage NM1149.....	60
Références	63
Participants	69
Editions INSERM	71