



Fiche Module Cycle Ingénieur
MODULE : TECHNIQUES DE L'ADN RECOMBINANT
Département : Agronomie et biotechnologie végétale

**Nom Responsable : Hamza
Sonia**

**Année d'étude : 3^{ième}
année**

Spécialité ou option : BIS

Pré requis, intitulé du ou des module(s) :
Génétique moléculaire

Objectifs du module : A l'issue du module, l'étudiant sera capable de :

- Connaître les techniques de clonage d'une séquence d'ADN
- Les approches utilisés pour isoler un gène

Contenu :

- Cours (18h)

I. Les outils de l'ADN recombinant

A Définition de l'ADN recombinant et clonage de l'ADN

B Les enzymes de restriction et carte de restriction

C. Les vecteurs de clonage

1. plasmides et exemple de clonage
2. vecteur d'expression
3. phage lambda
4. cosmides
5. Vecteurs dérivés du phage Lambda

III. Isolement ou clonage d'un gène

A. Construction d'une banque génomique ou cDNA

1. Probabilité d'obtention d'une banque génomique
2. Construction dans un phage
3. Construction dans un cosmide

B. Criblage d'une banque

1. Par une sonde hétérologue
2. par une sonde oligonucleotide et guessmer
3. par complémentation fonctionnelle

C. Construction d'une banque cDNA

1. Préparation de l'ARN messenger
2. Construction dans un phage lambda gt10/Lambda ZAP

D.. Criblage d'une banque cDNA

3. Criblage immunochimique
4. Hybridation différentielle
5. Complémentation fonctionnelle
 - 5.1. Exemple du clonage de l'ADNc codant pour le récepteur à l'érythropoïétine
 - 5.2. Clonage de l'ADNc codant pour la protéine de surface des cellules T (CD2)

E. La technique PCR/RT-PCR

1. Isolement d'une séquence d'ADN/gène par PCR
2. Isolement du cDNA par RT-PCR

F. Les méthodes d'isolement d'un gène (génétique directe)

1. Mutagène insertionnelle ou gene tagging
 - 1.1 Transposon tagging
 - 1.1.1. Définition d'un transposon et fréquence de transposition
 - 1.1.2. Exemple de Ac et Ds
 - 1.1.3. Mise en évidence d'un élément Ac et Ds
 - 1.1.4. Mécanisme d'insertion d'un transposon
 - 1.1.5 Résultats de l'excision d'un transposon
 - 1.1.6 Clonage du gène Flo3 par transposon tagging
 - 1.2. T-DNA tagging

- 1.2.1. Description de l'ADN-T
- 1.2.2. Mécanisme d'insertion de l'ADN-T
- 1.2.3. Exemple de clonage des gènes ag chez Arabidopsis
- 2. Clonage par approche de la cartographie moléculaire
 - 2.1.1 les marqueurs moléculaires et polymorphisme
 - 2.1.2. Identification d'un marqueur moléculaire et distance de liaison (cartographie)
 - 2.1.3. Fine mapping
 - 2.1.4. chromosomal landing
 - 7.3. Criblage d'une banque YACK
 - 7.4. Criblage d'une banque BAC
 - 7.5. Marche sur le chromosome (contig et fine mapping)
 - 2.1.5. Complémentation fonctionnelle

- TD / TP (10h)

Intervenant (s) :

Planification du cours, séquence : 1 , 2 , 3 ou 4

Besoin technique : • salle Info (oui/non) • connexion Internet (oui/non) • Data show (ou /non)