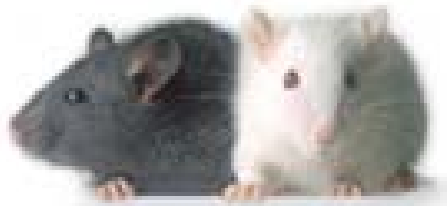


Biologie Moléculaire de la Cellule

(II) -Biologie cellulaire et physiologie intégrée

Dr Gilles LAMBERT - PCEM1 - 3 mars 2008



1- Bases moléculaires et cellulaires de l'hérédité

La recombinaison homologue

La mutagenèse dirigée

2- Les maladies autosomiques

Génotype et phénotype

Pédigrés

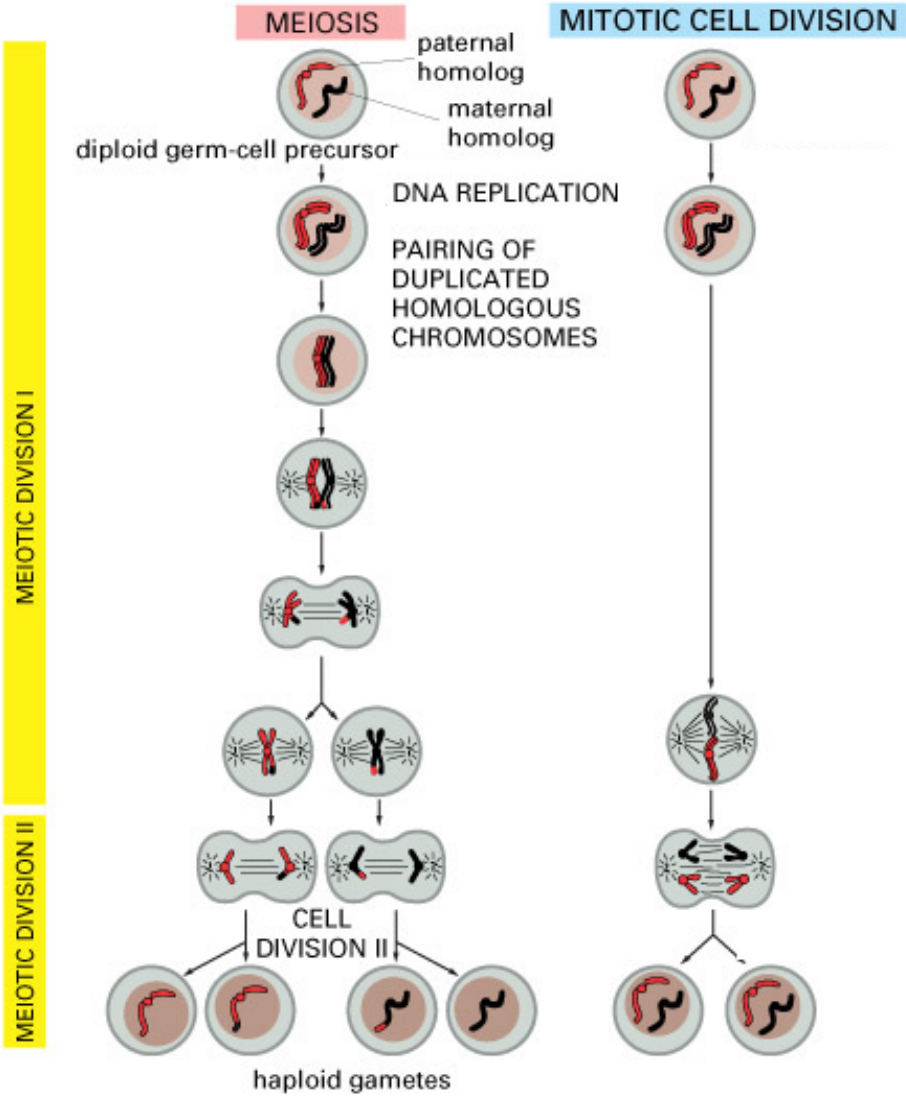
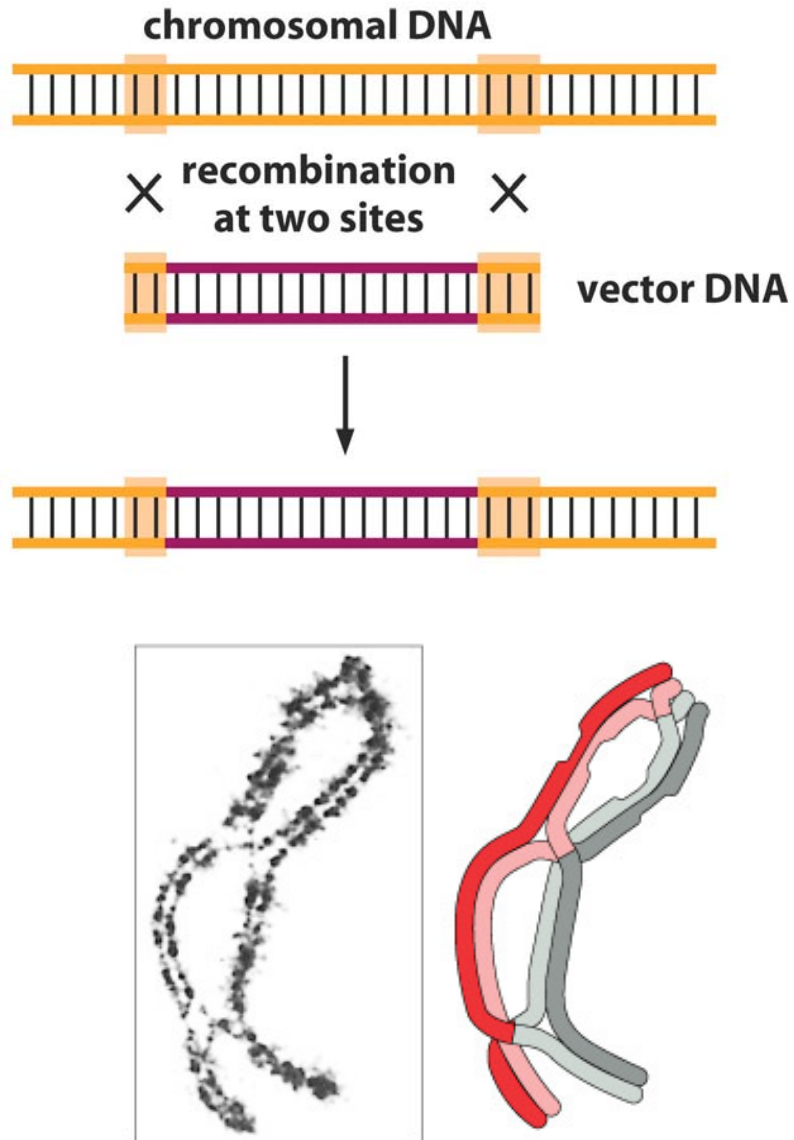
La génétique outil d'étude de processus cellulaires

3- Les animaux génétiquement modifiés

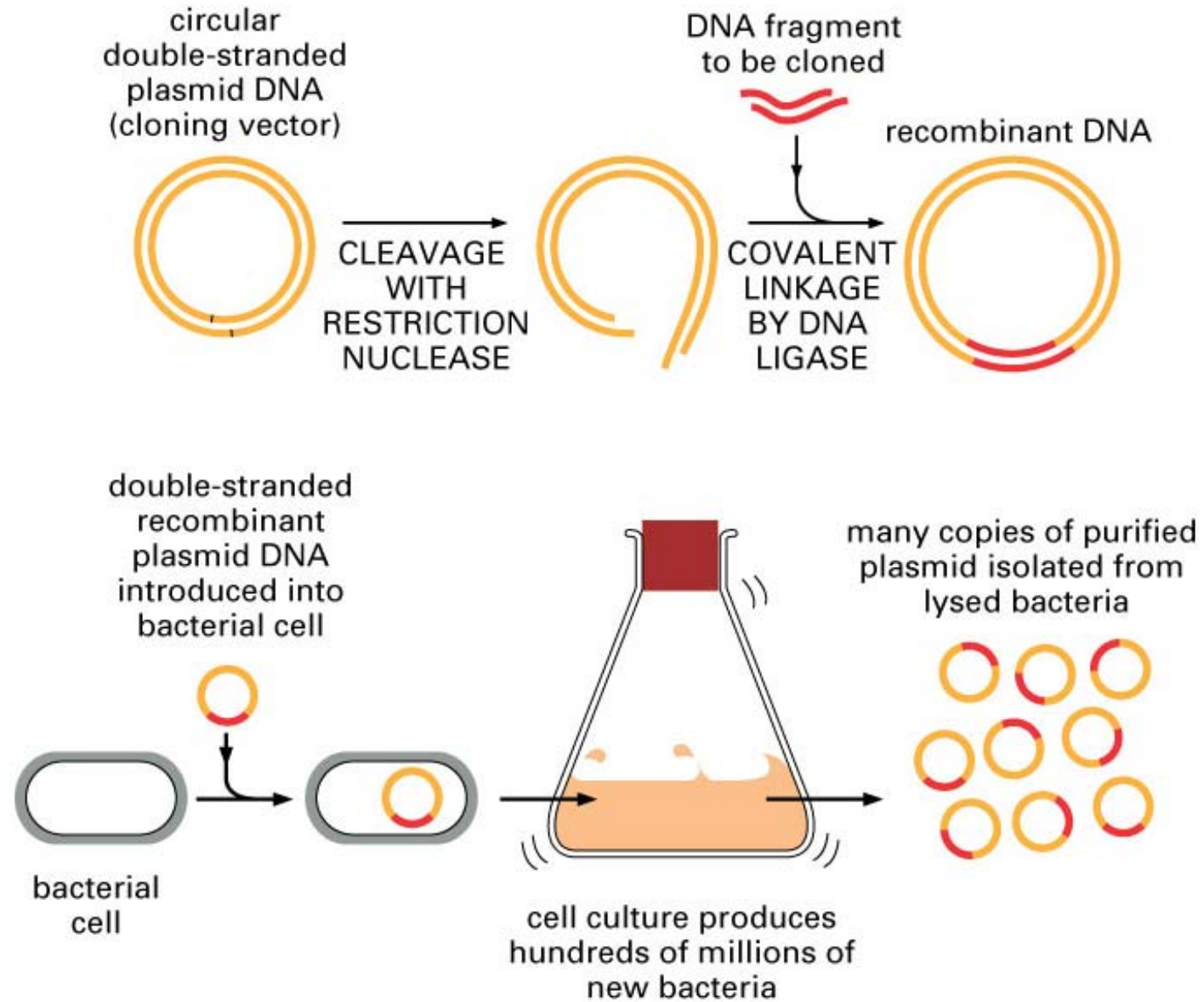
La transgénèse

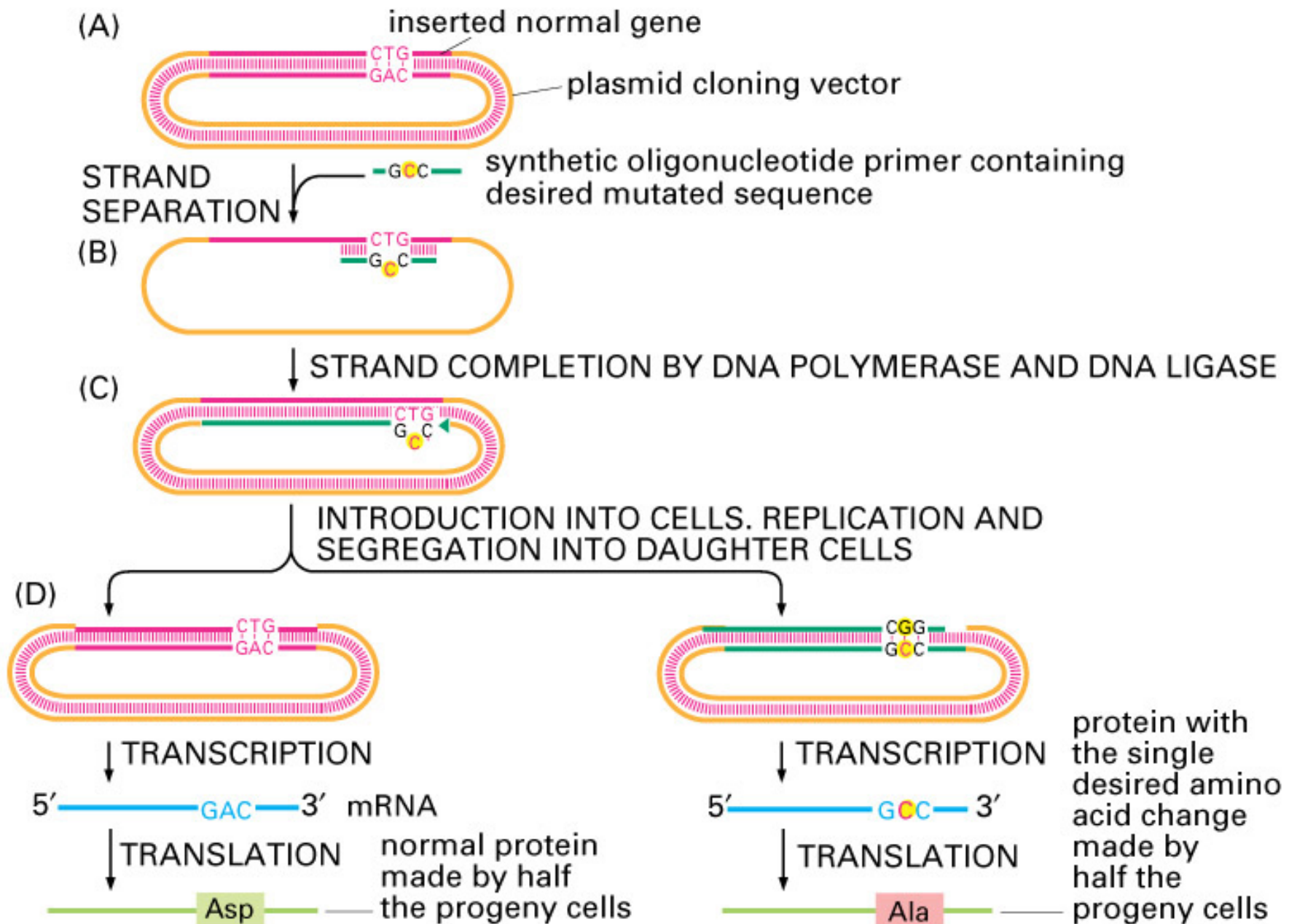
Les knock-outs

a) La recombinaison homologue



b) La mutagene dirigee





Biologie Moléculaire de la Cellule

(II) -Biologie cellulaire et physiologie intégrée

1- Bases moléculaires et cellulaires de l'hérédité

La recombinaison homologue

La mutagenese dirigée



2- Les maladies autosomiques

Génotype et phénotype

Pedigrés

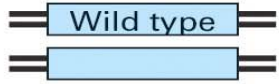
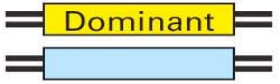
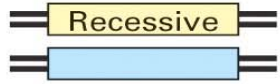
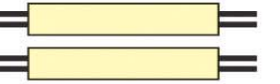
La génétique outil d'étude de processus cellulaires

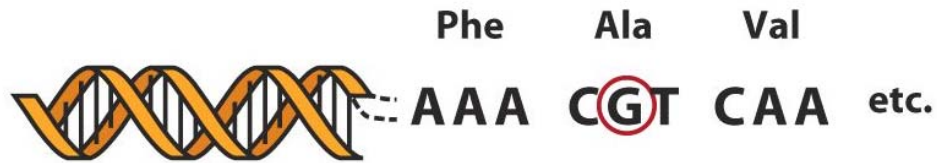
3- Les animaux génétiquement modifiés

La transgenese

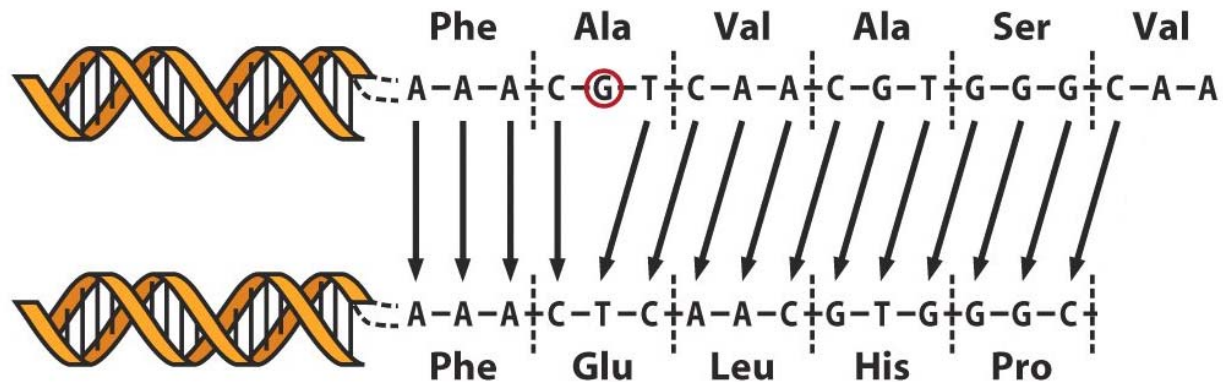
Les knock-outs

a) Genotype et phenotype

	WT	Dominant	Recessif	
DIPLOID GENOTYPE				
DIPLOID PHENOTYPE	Wild type	Mutant	Wild type	Mutant

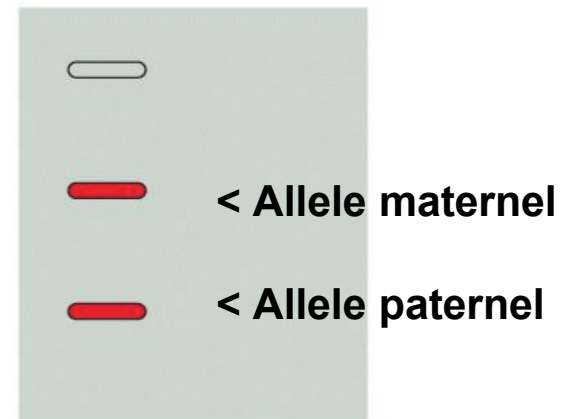
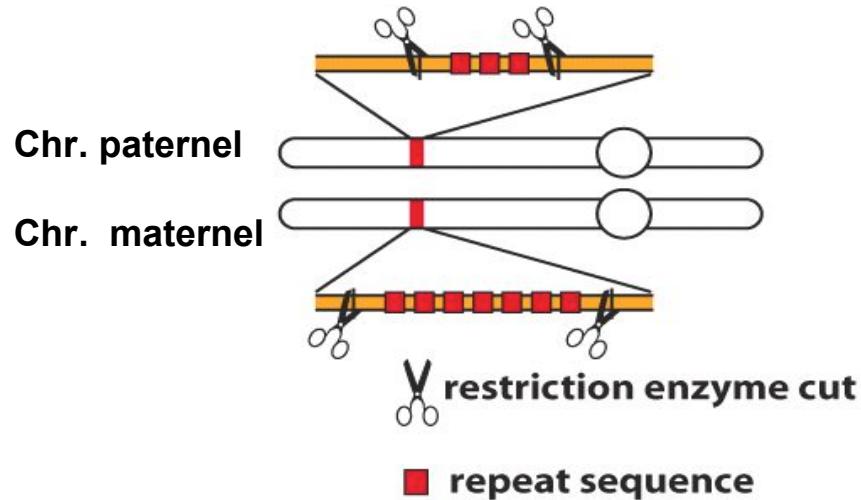
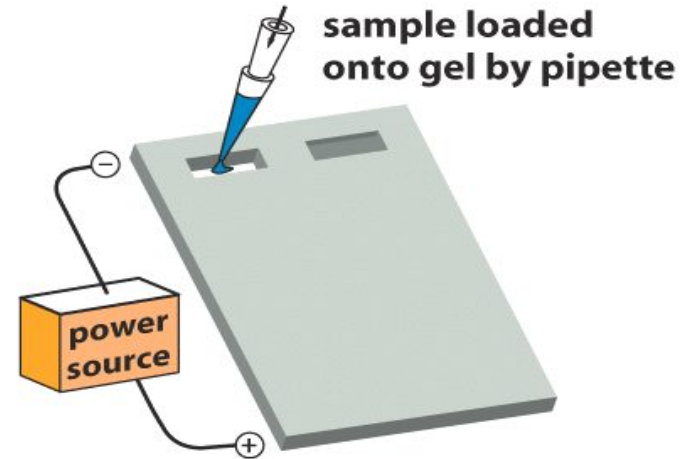
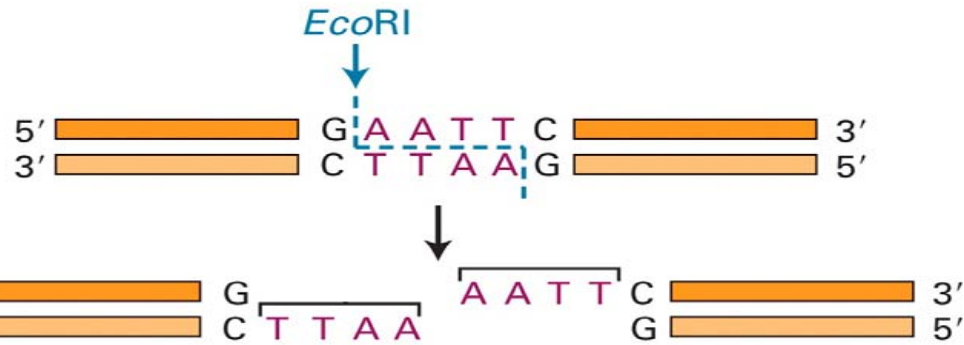


Mutation ponctuelle

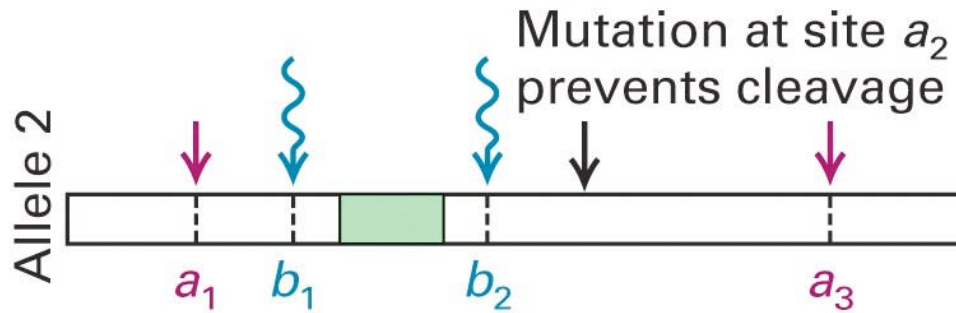
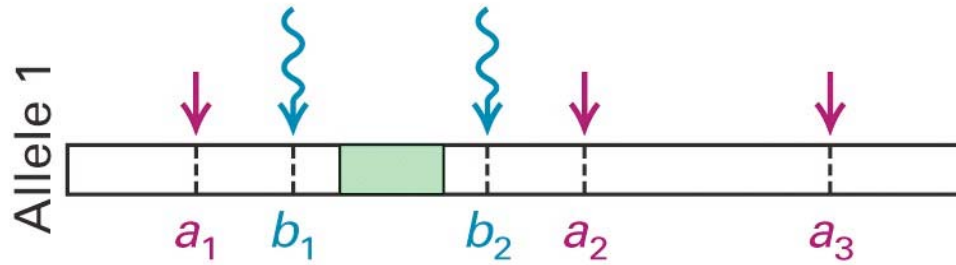


Insertions
ou deletions
+/- longue)

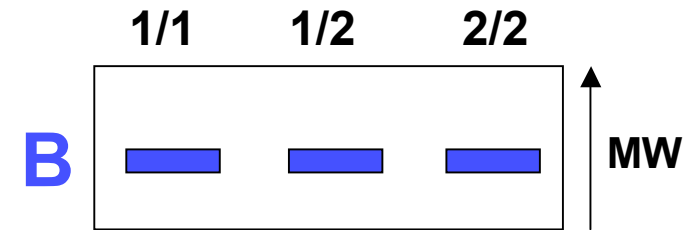
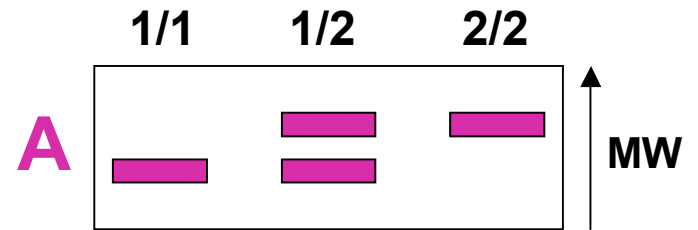
b) Genotype



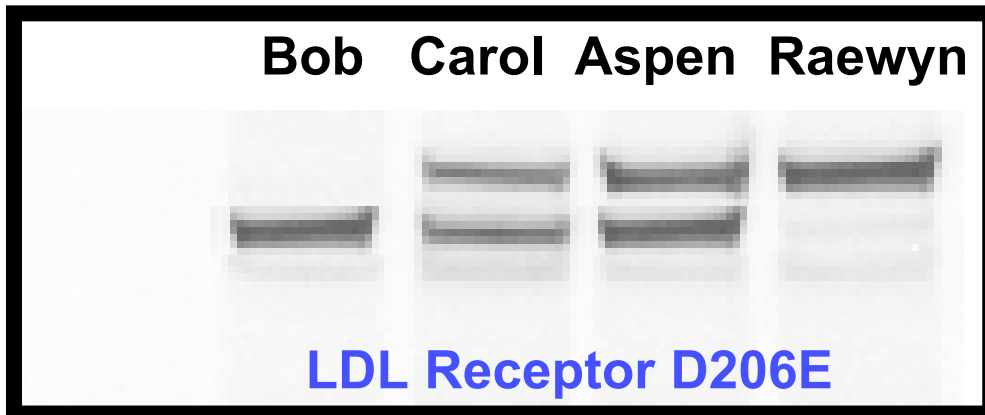
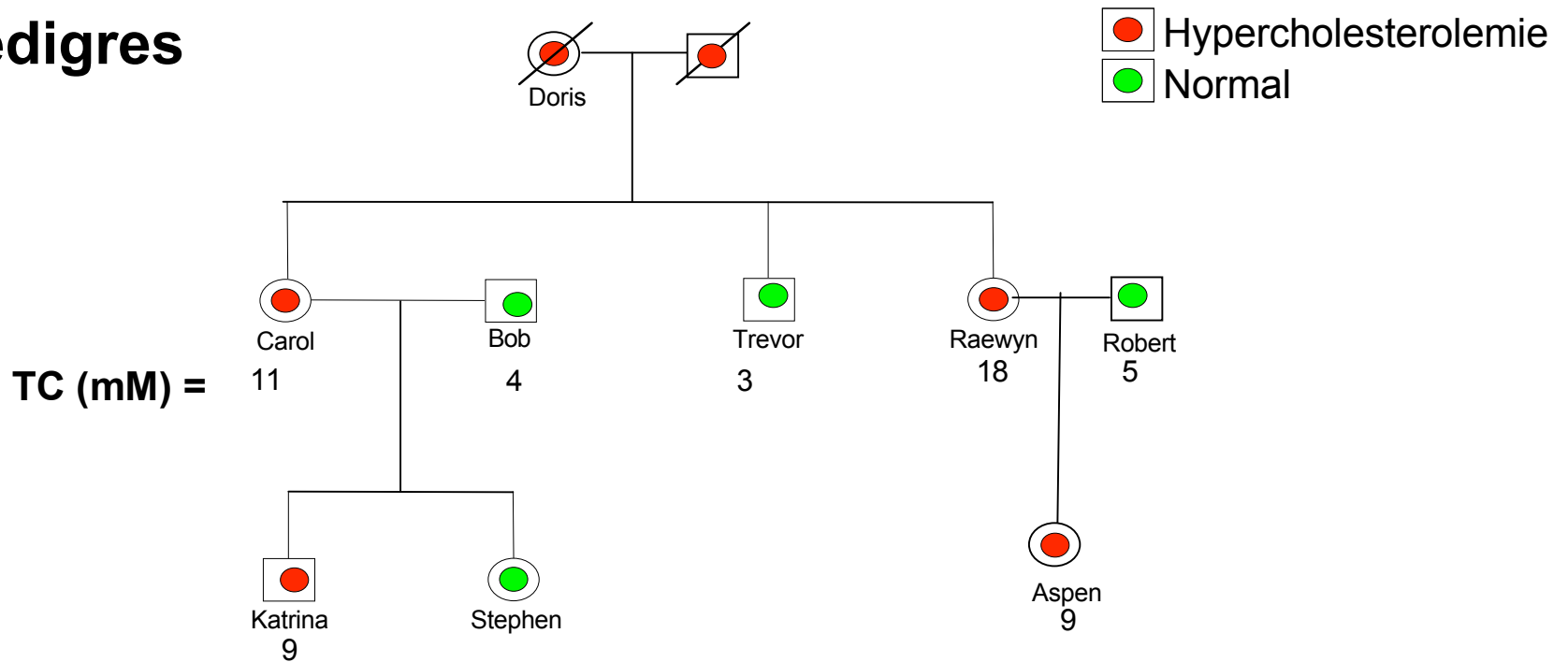
Chromosomal arrangement



- Restriction endonuclease A
- Restriction endonuclease B
- Probed single-copy region



c) Pedigres



d) La génétique outil d'étude de processus cellulaires

- **Partir d'un phénotype dysfonctionnel pour découvrir le gène impliqué.**
(génétique)
- **Surexprimer ou inhiber l'expression de la protéine sauvage ou mutée dans des cellules en culture pour comprendre son rôle fonctionnel.**
(culture cellulaire, clonage, mutagenèse dirigée, transfections)
- **Mesurer la structure et l'activité (enzyme) ainsi que les partenaires de la protéine in vitro**
(biochimie)
- **Déterminer la localisation subcellulaire de la protéine sauvage et mutée**
(microscopie, anticorps, protéines de fusion)
- **Comprendre le rôle physiologique de cette protéine in vivo**
(modèles animaux)

Biologie Moléculaire de la Cellule

(II) -Biologie cellulaire et physiologie intégrée

1- Bases moléculaires et cellulaires de l'hérédité

La recombinaison homologue

La mutagenèse dirigée

2- Les maladies autosomiques

Génotype et phénotype

Pedigrés

La génétique outil d'étude de processus cellulaires

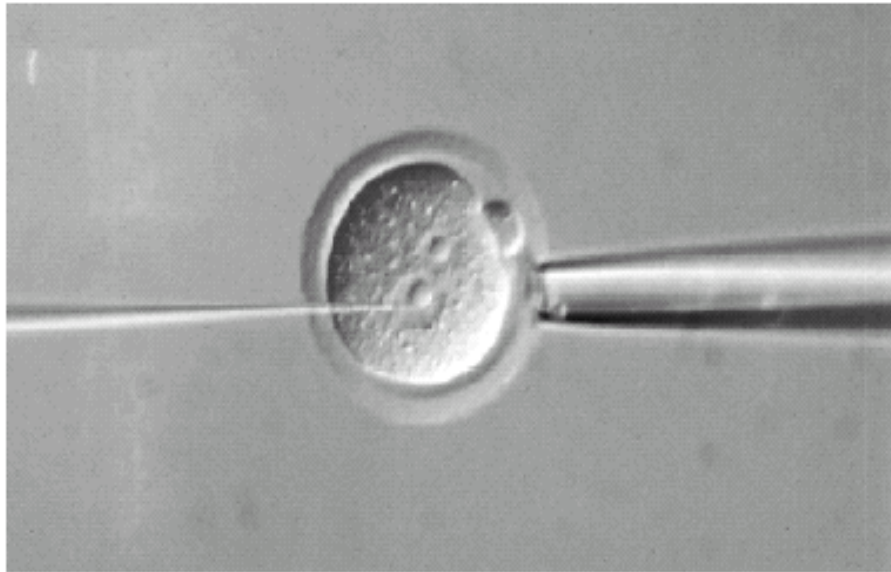


3- Les animaux génétiquement modifiés

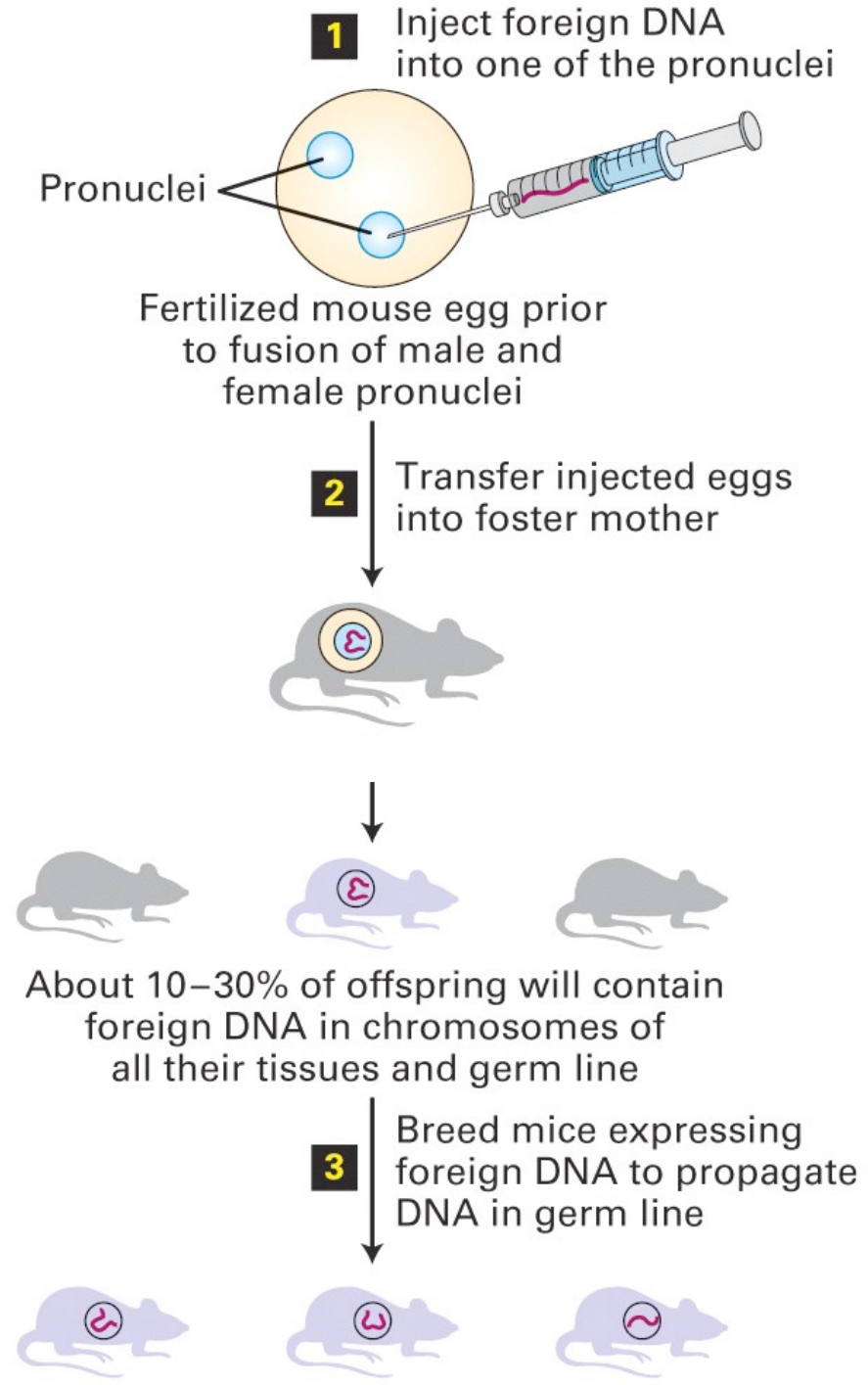
La transgénèse

Les knock-outs

a) La Transgenesis

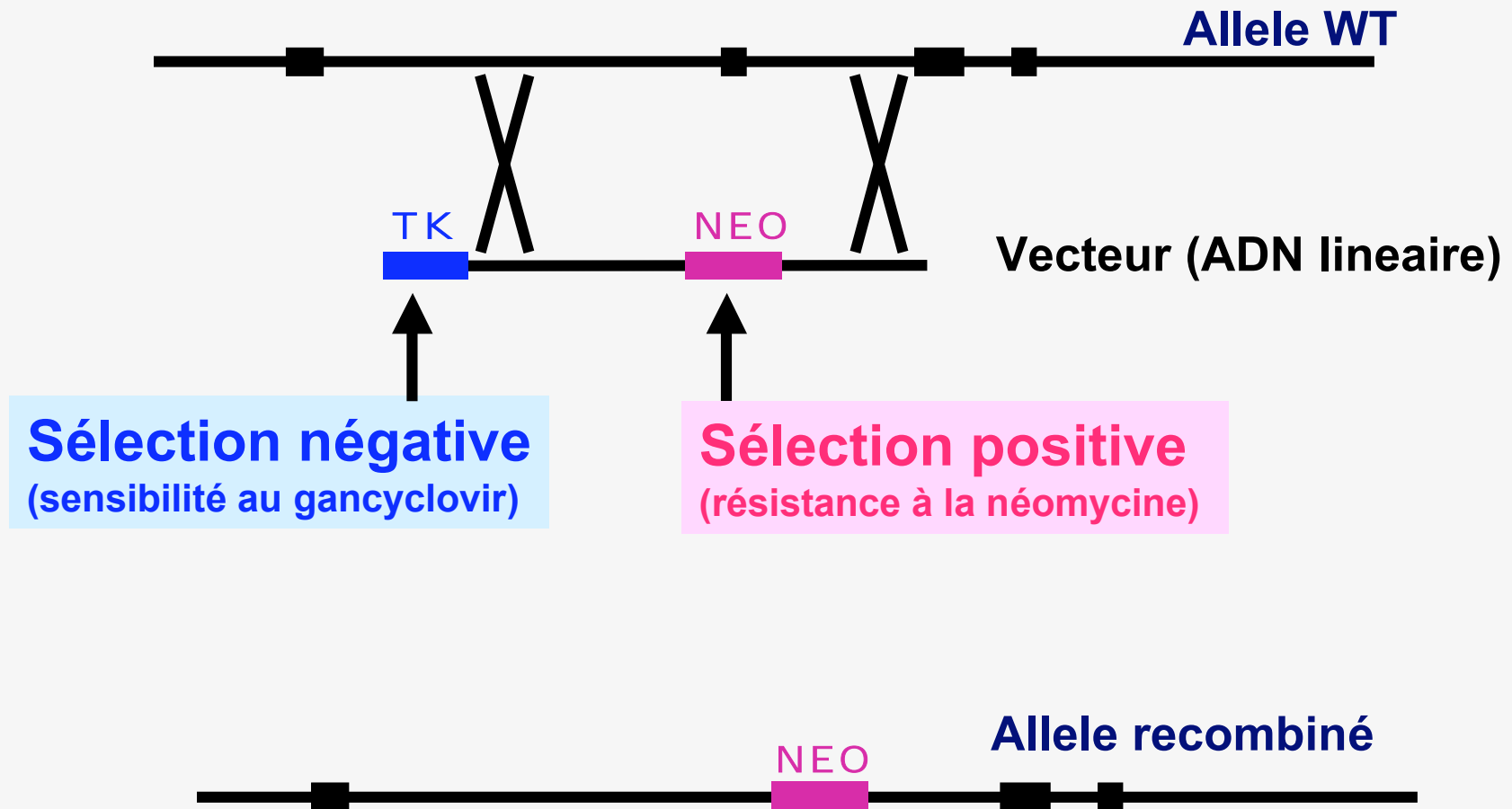


Xenogen offers pronuclear microinjection, where DNA (the transgene) is injected into the pronuclei of several eggs from a designated mouse or rat strain.

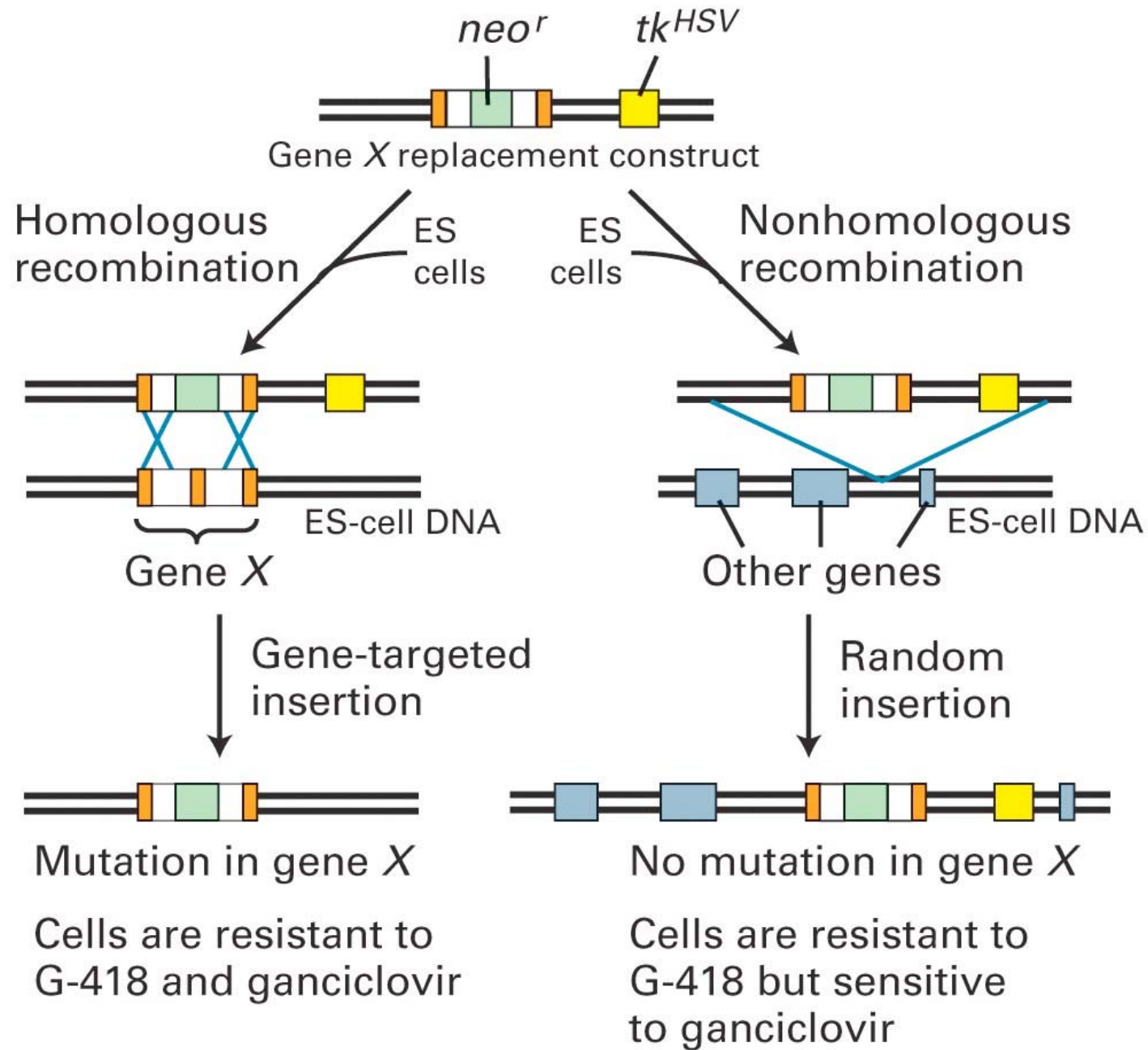


b) Les souris knockout (KO)

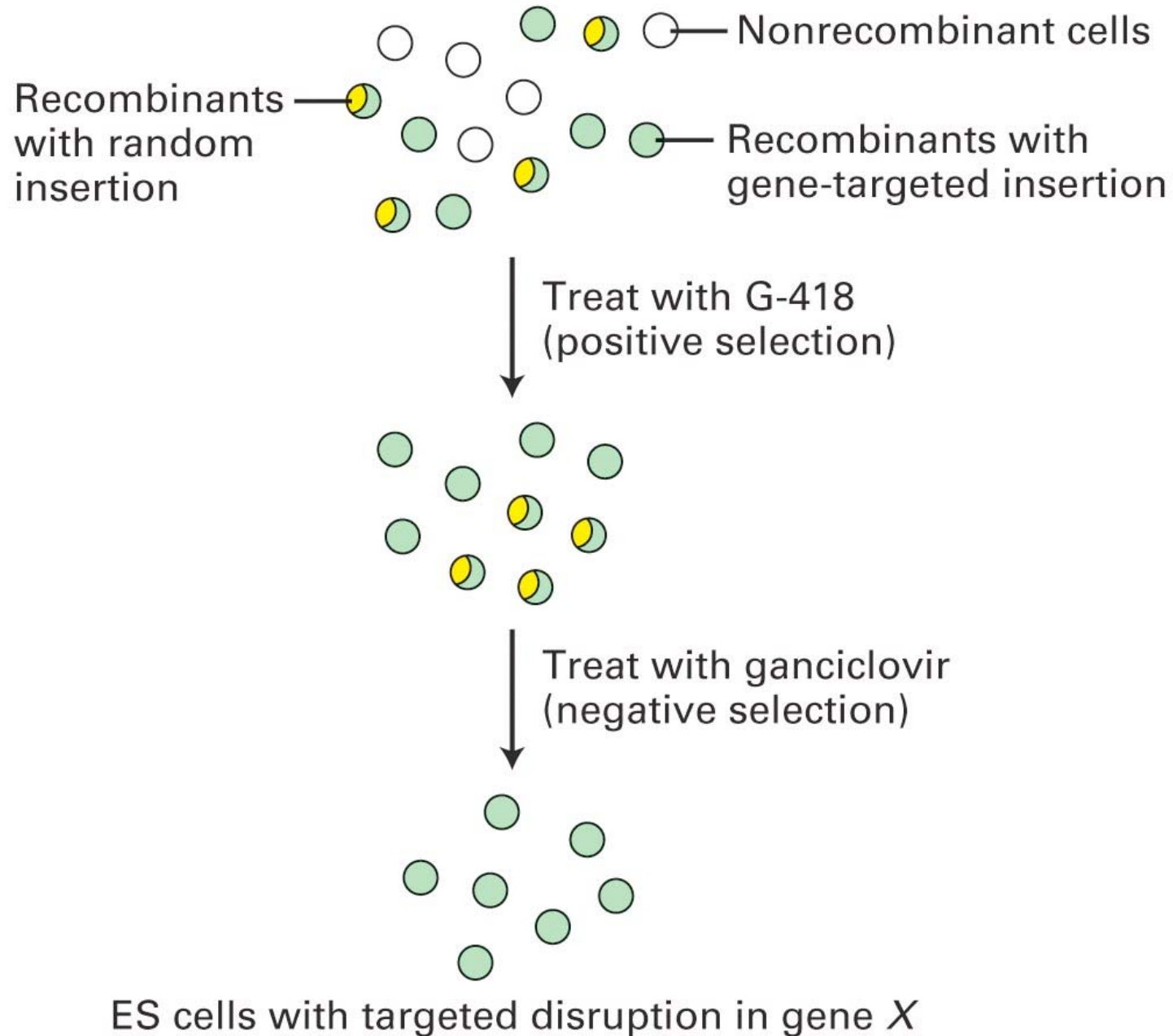
Cellules embryonnaires souches de souris SV 129
capables de recombinaison homologue



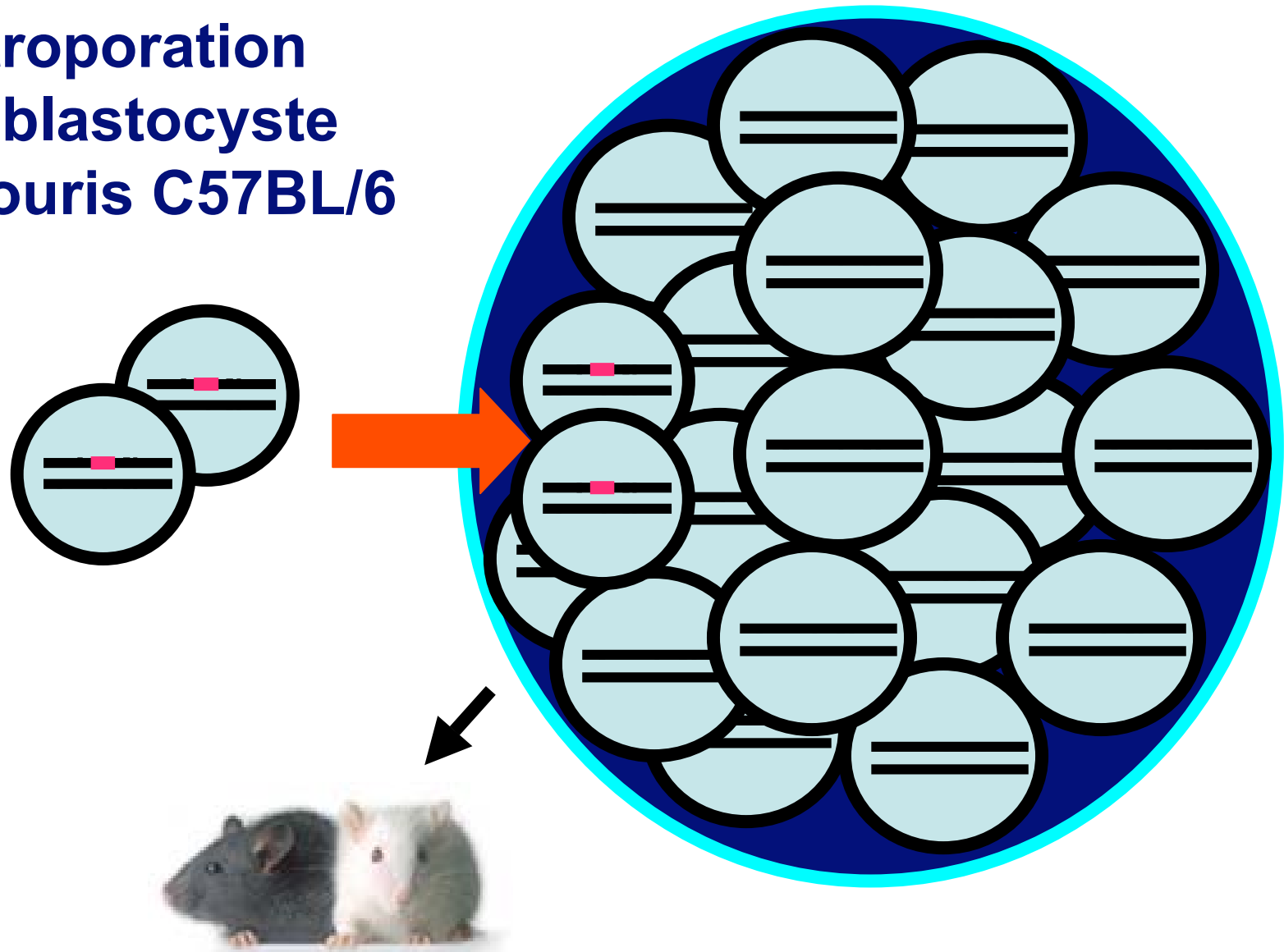
(a) Formation of ES cells carrying a knockout mutation



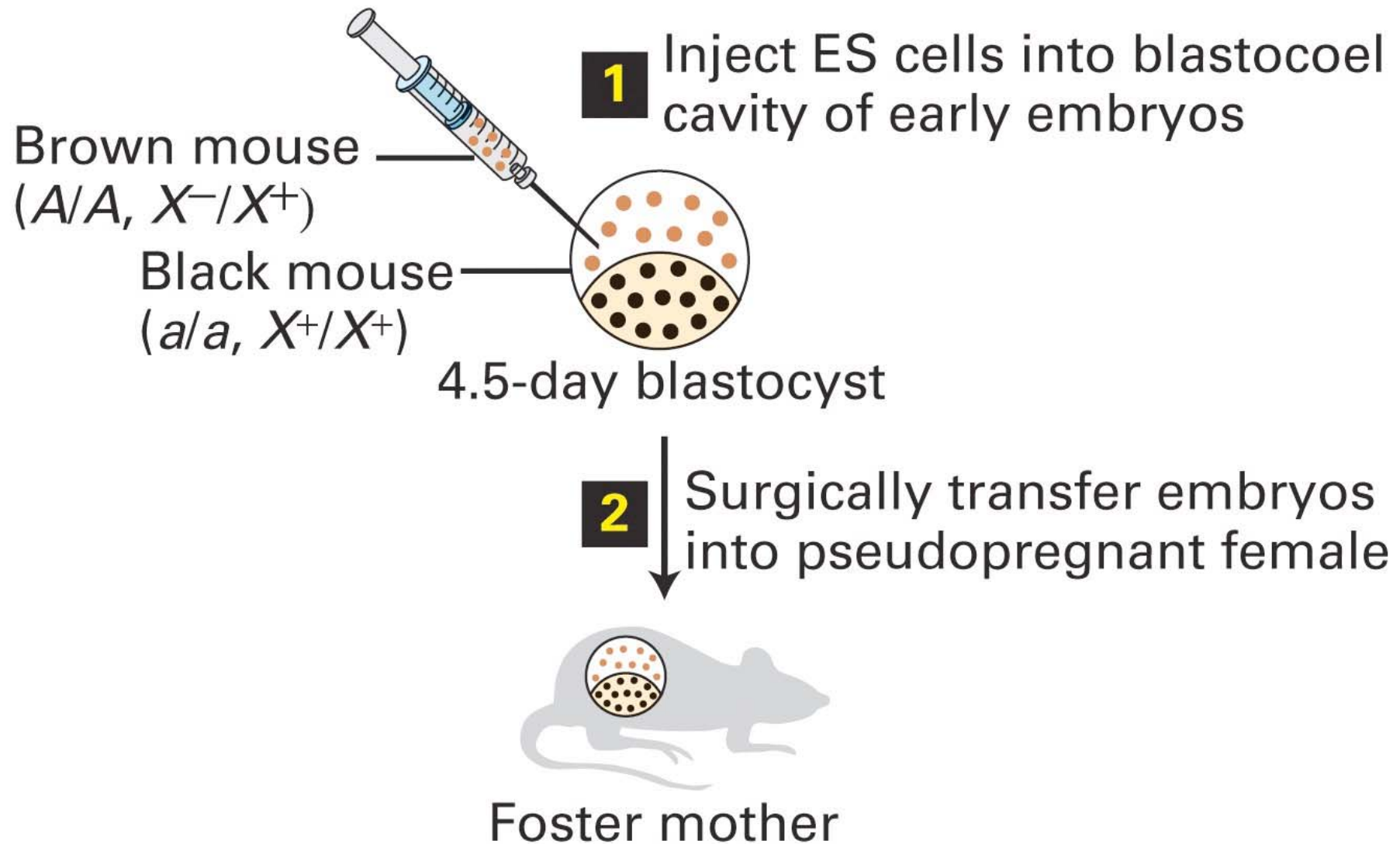
(b) Positive and negative selection of recombinant ES cells

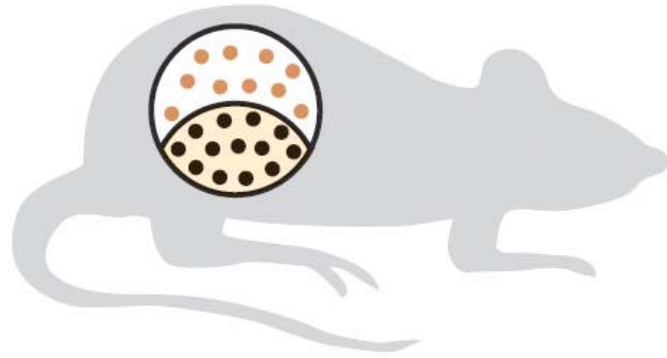


**Electroporation
d'un blastocyste
De souris C57BL/6**



Chimères (agouti/ noir)





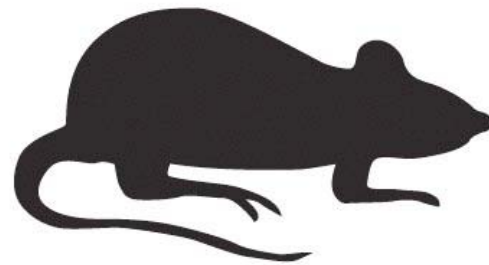
Foster mother



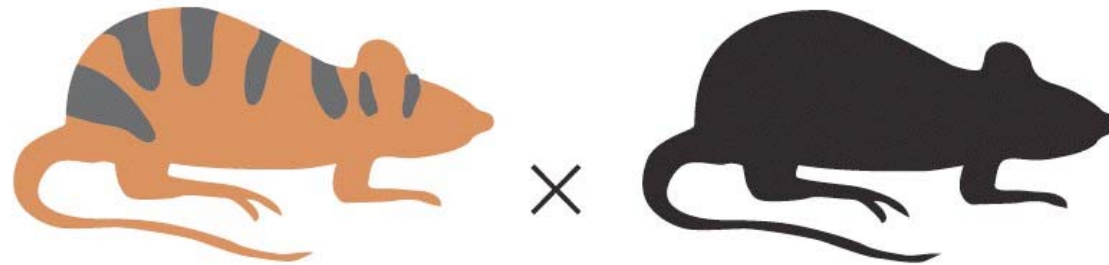
Possible
progeny



Chimeric

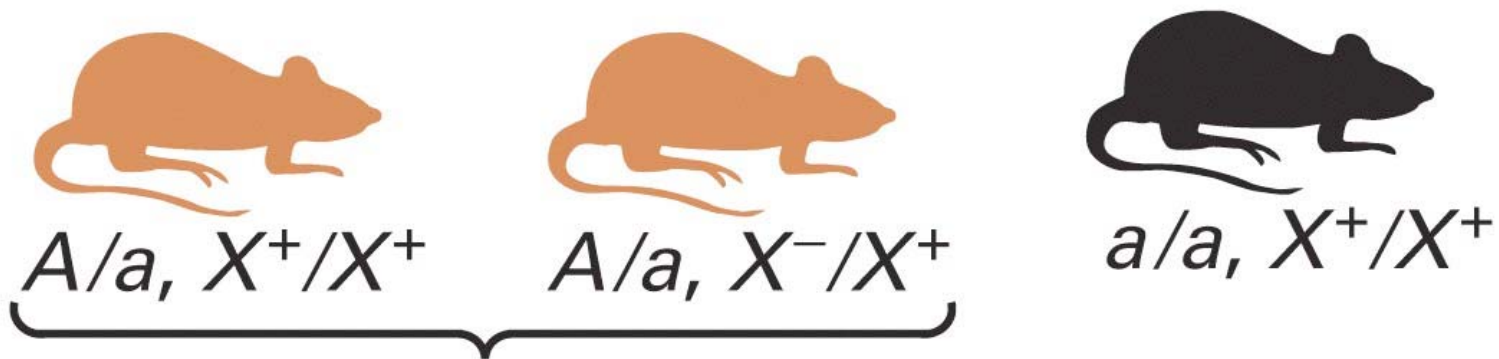


Black

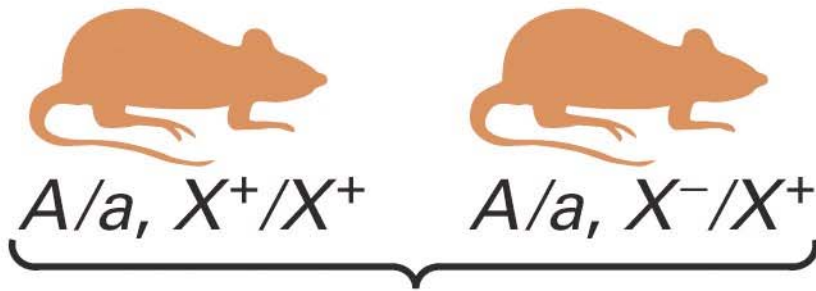


Possible germ cells: A/X^+ ; A/X^- ; a/X^+ All germ cells: a/X^+

3 ↓ ES cell-derived progeny will be brown



Progeny from ES cell-derived germ cells



Progeny from ES cell-derived
germ cells

4 ↓ Screen brown progeny DNA
to identify X^-/X^+ heterozygotes

5 ↓ Mate X^-/X^+ heterozygotes

6 ↓ Screen progeny DNA to identify
 X^-/X^- homozygotes



Knockout mouse

Conclusion

Les apports du génie génétique

La génétique inverse comme point de départ, une démarche pas toujours possible

Les outils de la biologie moléculaire ont permis des avancées incontestables en biologie cellulaire



Les apports des modèles animaux

Complémentarité avec les techniques *in vitro* et dans des cellules en culture

Résoudre un problème de Biologie Cellulaire

De la molécule à la physiologie

Vos questions avant le 31 mars 2008: lambertg@hri.org.au