

# Sommaire

**Avant-propos**, par B. BAUDIN, B. HAINQUE et Ph. LEFEBVRE ..... XVII

## Méthodes générales

<b>Chapitre 1. Unités, instrumentation et métrologie</b> , par B. BAUDIN, P. KAMOUN et N. MARIO .....	3
Unités. ....	3
Unités de base. ....	3
Unités dérivées. ....	3
Unités d'électricité usuelles. ....	5
Utilisation des gaz. ....	5
Commercialisation des gaz. ....	5
Utilisation des gaz. ....	5
Production de vide. ....	8
Trompes à vide. ....	8
Pompes à vide. ....	8
Production de chaleur. ....	8
Combustion d'un gaz. ....	8
Chauffage d'une résistance électrique. ....	9
Autres modes de chauffage. ....	11
Production de froid et lyophilisation. ....	11
Réfrigérateurs et congélateurs. ....	11
Neige carbonique et azote liquide. ....	11
Lyophilisation. ....	11
Volumétrie et matériel courant de laboratoire. ....	12
Matériel de volumétrie. ....	12
Matériel courant au laboratoire. ....	14
Balances. ....	15
Caractéristiques des balances et différents types. ....	15
Dosages gravimétriques. ....	16
<b>Chapitre 2. Préparation des réactifs</b> , par B. BAUDIN, P. KAMOUN et N. MARIO. ....	17
Purification de l'eau. ....	17
Eau de ville. ....	17
Les différents types d'eau purifiée. ....	17
Conservation et utilisation des eaux purifiées. ....	18
Mesure du pH et solutions tampons. ....	18
Mesure du pH. ....	18
Étalonnage et solutions d'étalonnage. ....	20
Solutions tampons. ....	21
Produits et réactifs chimiques. ....	24
Produits chimiques. ....	24
Préparation des solutions. ....	24
Osmolalité d'une solution tampon. ....	26

Bioréactifs .....	27
Principes de marquage et méthodes quantitatives .....	27
Méthodes qualitatives et amplification du signal .....	28
<b>Chapitre 3 Préparation des échantillons biologiques</b> , par B. BAUDIN et N. MARIO .....	30
Sang .....	30
Modes de prélèvement .....	30
Conditions de prélèvement .....	30
Utilisation du prélèvement .....	30
Anticoagulants .....	31
Conservation .....	31
Interférences .....	31
Urines .....	32
Autres liquides biologiques .....	32
Tissus .....	32
<b>Chapitre 4. Méthodes d'extraction et de fractionnement</b> , par B. BAUDIN, D. BONNEFONT-ROUSSELOT, P. KAMOUN et D. STERNBERG .....	34
Précipitations et extractions sélectives .....	34
Précipitation des protéines .....	34
Extraction des protéines membranaires .....	35
Extraction des acides nucléiques .....	35
Dialyse .....	40
Membranes de dialyse .....	40
Facteurs influençant la dialyse .....	40
Méthodes de dialyse .....	41
Applications de la dialyse .....	42
Filtration .....	42
Principes .....	42
Procédés de filtration .....	43
Différents types de filtres .....	43
Ultrafiltration .....	44
Centrifugation et ultracentrifugation .....	45
Définitions .....	45
Principes de la centrifugation .....	45
Appareillages .....	46
Ultracentrifugation préparative .....	47
Applications de la centrifugation en biochimie et biologie moléculaire .....	49
<b>Chapitre 5. Bonnes pratiques de laboratoire</b> , par N. MARIO .....	50
Notions générales .....	50
Définition de la qualité .....	50
Réglementation .....	50
Procédures .....	51
Phase pré-analytique .....	51
Prélèvement des échantillons .....	51
Conservation et transport des échantillons .....	51
Réception et enregistrement des échantillons .....	52
Phase analytique .....	52
Instrumentation et réactifs .....	52

Validation d'une méthode d'analyse quantitative (dosage) .....	52
Contrôle de qualité .....	55
Phase post-analytique .....	56

## Méthodes d'identification et de dosage des biomolécules

<b>Chapitre 6. Méthodes spectroscopiques</b> , par D. FOMPEYDIE et Ph. LEFEBVRE .....	59
Propriétés de la lumière, par Ph. LEFEBVRE .....	59
Nature de la lumière .....	59
Différents domaines des ondes électromagnétiques .....	60
Diffraction de la lumière .....	60
Réflexion et réfraction de la lumière .....	61
Diffusion de la lumière .....	62
Spectrophotométrie d'absorption moléculaire, par Ph. LEFEBVRE .....	62
Émission de rayonnements .....	62
Absorption de la lumière .....	63
Appareillage .....	64
Spectrophotométrie dérivée, par D. FOMPEYDIE .....	78
Principe de la méthode .....	78
Aspect des courbes .....	78
Conséquences .....	78
Appareillage .....	79
Intérêt de la dérivation .....	79
Applications .....	80
Photométrie des milieux troubles : turbidimétrie et néphélogétrie, par D. FOMPEYDIE et Ph. LEFEBVRE ...	81
Principe .....	81
Appareillage .....	81
Applications .....	81
<b>Chapitre 7. Spectroscopie moléculaire par luminescence</b> , par N. AUZEIL et A. REGAZZETTI .....	83
Généralités. Principes de la fluorescence .....	83
Excitation de la molécule par absorption d'un photon. ....	84
Devenir d'une molécule excitée .....	84
Signal de fluorescence .....	85
Grandeurs caractéristiques du processus de fluorescence .....	86
Disparition de la fluorescence .....	90
Phénomènes liés à la fluorescence .....	93
Anisotropie et polarisation de fluorescence .....	93
Fluorescence par transfert d'énergie par résonance (FRET) .....	95
Spectrofluorimétrie .....	96
Spectrofluorimètres .....	97
Recommandations pour les analyses effectuées par spectrofluorimétrie .....	98
Molécules fluorescentes .....	99
Généralités .....	99
Fluorophores intrinsèques .....	99
Fluorophores extrinsèques .....	100
Quelques applications de la fluorescence .....	109
Applications biochimiques de la polarisation de fluorescence .....	109
Détection et dosage par CLHP couplée à une détection par fluorescence .....	111
Chimiluminescence et bioluminescence .....	111
Chimiluminescence .....	111
Bioluminescence .....	114
Applications .....	115

<b>Chapitre 8. Spectrométries d'absorption et d'émission atomiques</b> , par J. POUPON .....	120
Principe général .....	120
Aspects théoriques et appareillage .....	120
Atome et théorie quantique .....	120
Spectrométrie d'absorption atomique en flamme (SAAF) .....	122
Spectrométrie d'absorption atomique électrothermique (SAAET) .....	123
Spectrométrie d'émission atomique en flamme (photométrie de flamme) .....	127
Spectrométrie d'émission atomique en plasma couplé induit haute fréquence (ICP-OES) .....	127
Couplages et spéciation .....	129
<b>Chapitre 9. Spectrométrie de masse</b> .....	130
Introduction générale et définitions, par M.-C. MENET .....	130
Spectromètre de masse .....	130
Spectre de masse .....	131
Masse .....	131
Exactitude de masse .....	132
Résolution .....	132
Sensibilité .....	132
Limite de masse .....	132
Ions .....	132
Analyse des molécules organiques : biomolécules simples et macromolécules, par M.-C. MENET .....	132
Principes et appareillages .....	132
Couplage des méthodes séparatives avec la spectrométrie de masse .....	144
Applications .....	144
Analyse des molécules inorganiques et des éléments minéraux par spectrométrie de masse en plasma induit, par J. POUPON .....	153
Principes et appareillages .....	153
Interférences en ICP-MS et systèmes de correction des interférences .....	154
Applications .....	156
<b>Chapitre 10. Méthodes électrochimiques et potentiométriques</b> , par A. DUGAY .....	158
Méthodes électrochimiques .....	158
Voltamétrie ou voltampérométrie .....	158
Potentiométrie, ampérométrie et coulométrie .....	161
Applications des méthodes électrochimiques .....	163
Méthodes potentiométriques .....	166
Électrodes indicatrices métalliques .....	166
Électrodes indicatrices à membrane sélective ou électrodes spécifiques .....	168
Méthodes de calcul de la concentration .....	176
Applications de la potentiométrie en biochimie clinique .....	177
<b>Chapitre 11. Méthodes isotopiques</b> , par P. KAMOUN et J.-M. VILLETTE .....	180
Structure de l'atome .....	180
Radioactivité .....	180
Émission alpha ( $\alpha$ ) .....	180
Émission bêta ( $\beta$ ) .....	180
Émission gamma ( $\gamma$ ) .....	181
Lois de la radioactivité .....	181
Détection et mesure de la radioactivité .....	182
<b>Chapitre 12. Méthodes enzymatiques</b> , par B. BAUDIN .....	187
Définition des enzymes et spécificité .....	187
Spécificité .....	187
Site actif .....	187
Mécanismes de la catalyse .....	187

Aspects cinétiques .....	188
Relation de Michaelis-Menten et inhibiteurs enzymatiques .....	189
Enzymes allostériques .....	191
Classification des enzymes et principales coenzymes .....	192
Détermination des activités enzymatiques .....	194
Dosage de substrats par des méthodes enzymatiques .....	196
Enzymes-réactifs de laboratoire .....	198
Marquage des enzymes pour immunodosage .....	198
Biocapteurs enzymatiques .....	199
Autres emplois des enzymes .....	199
Purification des enzymes .....	199
<b>Chapitre 13. Méthodes immunologiques</b> , par J.-M. BIDART et L. LACROIX .....	201
Principes généraux .....	201
Anticorps et antigène .....	201
Réaction antigène-anticorps .....	202
Production des anticorps .....	202
Production et caractéristiques des anticorps polyclonaux .....	202
Production et caractéristiques des anticorps monoclonaux .....	203
Ingénierie des anticorps .....	204
Principales méthodes immunologiques .....	205
Méthodes fondées sur la précipitation ou l'agglutination .....	205
Méthodes fondées sur l'utilisation de réactifs marqués .....	206
Vers des méthodes immunologiques sans anticorps .....	212
Méthodes multiplex .....	212
De la sensibilité des immunodosages .....	213
De la modification des anticorps à leur substitution par des aptamères .....	214
<b>Chapitre 14. Méthodes chromatographiques : généralités</b> , par Ph. LEFEBVRE .....	216
Différents types de chromatographies .....	216
Chromatographie planaire .....	216
Chromatographie en phase gazeuse .....	216
Chromatographie en phase liquide .....	216
Principaux mécanismes de séparation chromatographique .....	216
Chromatographie d'adsorption .....	216
Chromatographie de partage .....	217
Chromatographie d'échange d'ions .....	217
Chromatographie d'exclusion stérique .....	217
Chromatographie d'affinité .....	217
Principales données théoriques .....	217
Coefficient de partage .....	217
Grandeurs de rétention .....	218
Efficacité de la colonne .....	218
Qualité de la séparation .....	219
<b>Chapitre 15. Chromatographie planaire</b> , par Ph. LEFEBVRE .....	221
Chromatographie sur papier .....	221
Chromatographie sur couches minces .....	221
Principe .....	221
Mécanismes de séparation .....	221
Conduite d'une CCM .....	222
Grandeurs caractéristiques .....	224

<b>Chapitre 16. Chromatographie en phase gazeuse</b> , par J.-P. GRAMOND et Ph. LEFEBVRE. ....	226
Principes de la séparation. ....	226
Interactions moléculaires dispersives. ....	226
Interactions moléculaires polaires. ....	226
Appareillage. ....	226
Gaz vecteur. ....	226
Colonne. ....	227
Modes d'injection. ....	229
Détection. ....	235
Préparation de l'échantillon. ....	237
Extraction. ....	237
Dérivation. ....	237
Optimisation de l'analyse. ....	237
Choix du gaz vecteur. ....	237
Température d'analyse. ....	238
Anomalies rencontrées lors de l'acquisition d'un chromatogramme. ....	238
Quantification : méthode de l'étalonnage interne. ....	238
<b>Chapitre 17. Chromatographie liquide à haute performance</b> .....	240
Interactions moléculaires, par M.-C. MENET. ....	240
Moment dipolaire. ....	241
Interactions. ....	241
Évaluation de la polarité d'une molécule organique. ....	241
Évaluation de l'hydrophobie d'une molécule organique. ....	242
Couples phase stationnaire/phase mobile. Mécanismes de rétention, par M.-C. MENET. ....	242
Chromatographie d'adsorption. ....	242
Chromatographie de partage. ....	243
Chromatographie d'échange d'ions. ....	245
Chromatographie d'exclusion stérique. ....	247
Séparation des molécules chirales. ....	249
Optimisation en chromatographie en phase liquide, par M.-C. MENET. ....	251
Augmentation de la résolution par modification du facteur de rétention $k'$ . ....	251
Augmentation de la résolution par augmentation de la sélectivité $\alpha$ . ....	252
Augmentation de la résolution par augmentation de l'efficacité $N$ . ....	252
Appareillage en chromatographie liquide, par P. LEFEBVRE et M.-C. MENET. ....	254
Pompes. ....	254
Systèmes d'injection. ....	257
Colonnes. ....	257
Détecteurs. ....	258
<b>Chapitre 18. Dérivation en chromatographie</b> , par Ph. LEFEBVRE. ....	262
Dérivation en chromatographie en phase gazeuse. ....	262
Réactions de silylation. ....	262
Réactions d'acylation. ....	264
Réactions d'alkylation. ....	266
Dérivation en chromatographie liquide à haute performance. ....	266
Dérivation pour l'extraction. ....	266
Dérivation pour la séparation. ....	267
Dérivation pour la détection. ....	270
Dérivation pré- ou post-colonne. ....	271
<b>Chapitre 19. Méthodes électrophorétiques</b> , par B. BAUDIN. ....	274
Principes généraux de l'électrophorèse. ....	274
Mobilité électrophorétique et facteurs influants. ....	274
Courants électro-osmotiques et effet Joule. ....	275

Électrophorèse de zone.....	275
Définition et ionisation des macromolécules biologiques.....	275
Caractéristiques.....	276
Supports.....	276
Méthodologies en électrophorèse de zone.....	277
Méthodes de révélation.....	282
Électrophorèse préparative.....	284
Électrophorèse préparative sur gel.....	284
Électrophorèse préparative sur colonne.....	284
Électrophorèse à écoulement libre ou <i>free flow electrophoresis</i> .....	285
Électrophorèse en veine liquide et électrophorèse capillaire.....	285
Principes et avantages de l'électrophorèse capillaire.....	285
Principales méthodes utilisées en électrophorèse capillaire.....	286
Appareils.....	288

### Méthodes d'étude des macromolécules

<b>Chapitre 20. Purification des macromolécules par chromatographie liquide</b> , par B. BAUDIN.....	291
Matériels.....	291
Colonnes.....	291
Pompes.....	292
Détecteurs.....	292
Collecte des fractions et traitement du signal.....	292
Aspects quantitatifs.....	293
Chromatographie d'exclusion stérique.....	293
Principe.....	293
Colonnes d'exclusion stérique et tampons de travail.....	293
Applications préparatives aux macromolécules.....	294
Chromatographie d'échange d'ions.....	296
Principe général.....	296
Application aux protéines.....	296
Application aux acides nucléiques et autres molécules biologiques.....	297
Colonnes et tampons de travail.....	297
Chromatographies d'adsorption et de partage.....	298
Chromatographie sur hydroxyapatite.....	298
Chromatographie sur colorants chimiques.....	298
Chromatographie sur chélates métalliques ou <i>immobilized metal affinity chromatography</i> .....	298
Chromatographie d'interactions hydrophobes.....	299
Chromatographie en phases inversées.....	300
Chromatographie d'affinité.....	300
Affinité chimique.....	300
Affinité biologique.....	301
<b>Chapitre 21. Méthodes d'étude structurale des macromolécules</b> , par B. BAUDIN, F. DARDEL et D. STERNBERG.....	303
Purification et dosage des protéines, par B. BAUDIN.....	303
Purification des protéines.....	303
Dosage des protéines.....	304
Quantification de l'ADN et l'ARN, par D. STERNBERG.....	306
Purification des acides nucléiques.....	306
Dosage de l'ADN et de l'ARN.....	306

Étude de la structure primaire, par B. BAUDIN, avec D. STERNBERG .....	308
Composition chimique des protéines et peptides .....	308
Détermination de la séquence .....	309
Détermination de la masse, de la taille et de la forme, par B. BAUDIN .....	314
Notions de masse moléculaire, de forme et de taille .....	314
Méthodes d'étude directes et méthodes biochimiques .....	314
Analyses de sédimentation par ultracentrifugation .....	315
Méthodes utilisant la diffusion de la lumière .....	317
Méthodes d'analyse des structures secondaire et tertiaire .....	317
Rappel sur les différents niveaux structuraux des macromolécules, par B. BAUDIN .....	317
Dichroïsme circulaire appliqué à l'étude des protéines, par B. BAUDIN .....	318
Études par radiocristallographie et RMN-2D, par F. DARDEL .....	319

## Méthodes d'étude en biologie moléculaire

<b>Chapitre 22. Principes, méthodes et outils en biologie moléculaire</b> , par D. STERNBERG .....	329
L'hybridation, propriété fondamentale des acides nucléiques .....	330
Forces à l'origine de l'appariement en double hélice .....	330
Facteurs de transition entre état apparié et état non apparié .....	330
Notion de température de fusion ( $T_m$ ) et de courbe de fusion .....	330
Méthodes de caractérisation du génome ou du transcriptome fondées sur la reconnaissance par hybridation .....	332
Outils enzymatiques de modification et de synthèse des acides nucléiques .....	334
Introduction et revue générale .....	334
Endonucléases de restriction de l'ADN double brin .....	335
Propriétés des ADN polymérasés utilisant des matrices ADN et ARN .....	335
Méthodes d'étude de l'ARN utilisant la synthèse d'ADN à partir d'ARN (transcription inverse) .....	336
Introduction générale .....	336
Types d'amorçage pour la RT (synthèse des brins antisens) .....	337
Transcriptases inverses utilisables pour la RT .....	338
Méthodes utilisées pour la synthèse du second brin (si nécessaire) .....	338
Problème de la représentativité qualitative et quantitative du produit final de RT éventuellement amplifié .....	339
Méthodes de polymérisation en chaîne de l'ADN (PCR) .....	339
Présentation générale de la réaction .....	339
Historique de la PCR .....	340
Cinétiques théorique et réelle de la synthèse d'ADN au cours de la PCR .....	341
Variétés des réactifs et des conditions réactionnelles en PCR .....	341
Échantillons d'ADN ou d'ARN introduits dans le mélange réactionnel de la PCR .....	343
Utilisation de standards dans une PCR .....	344
Les conditions thermiques de la réaction de PCR et leur contrôle .....	344
Optimisation d'une PCR .....	345
Quantification du nombre de copies d'une séquence d'acide nucléique par (RT-)PCR en temps réel ...	345
Dispositifs moléculaires d'émission de fluorescence utilisés .....	346
Normalisation par rapport à un fluorochrome passif .....	348
Modes d'expression des mesures .....	348
Gamme dynamique et efficacité .....	348
(RT-)PCR quantitative avec standard endogène et méthode des $\Delta\Delta C_t$ .....	349
Méthodes de détection de mutations ponctuelles de l'ADN .....	350
Méthode fondée sur la détection des polymorphismes de restriction (RFLP) .....	350
Étude des polymorphismes conformationnels des simples brins par SSCP .....	351
Méthodes fondées sur la détection des hétéroduplex ou des mésappariements .....	353
Électrophorèse sur gel en gradient de dénaturation (DGGE) .....	353
Chromatographie liquide à haute performance en conditions de dénaturation (DHPLC) .....	358

<b>Chapitre 23. Aperçus sur le clonage de l'ADN</b> , par D. STERNBERG .....	362
Les quatre étapes du clonage .....	362
Génération des fragments d'ADN : étape 1 .....	362
Choix et préparation du vecteur, et jonction de l'ADN d'intérêt à l'ADN vecteur : étape 2 .....	362
Introduction de l'ADN vecteur greffé dans les cellules hôtes : étape 3 .....	362
Criblage des cellules hôtes ayant incorporé le vecteur greffé : étape 4 .....	364
Quelques vecteurs de clonage .....	365
Contraintes concernant l'ADN insérable .....	365
Plasmides bactériens sauvages .....	366
Phages .....	367
Systèmes hybrides .....	369
Conclusion .....	371
<b>Chapitre 24. Puces à ADN. Méthodes d'étude du génome et du transcriptome</b> , par J.-M. BIDART et L. LACROIX .....	372
Principe général .....	373
Les différents types de puces à ADN .....	375
Densité .....	375
Support .....	375
Système de détection .....	376
Type de séquences utilisées comme sondes .....	377
Fabrication des puces à ADN .....	378
Préparation des échantillons, amplification, marquage et hybridation des cibles .....	378
Préparation des échantillons d'acides nucléiques .....	378
Amplification et marquage des cibles .....	378
Hybridation et lavage .....	378
Analyse bio-informatique et biostatistique .....	379
Acquisition des images .....	379
Normalisation, filtrage et représentation des données .....	379
Analyse biostatistique des données d'expression génique .....	380
Conclusion .....	382
Exemple d'application .....	383
<b>Méthodes d'étude des interactions moléculaires</b>	
<b>Chapitre 25. Interactions ligands-récepteurs</b> , par B. BAUDIN et B. HAINQUE .....	387
Classification des interactions moléculaires .....	387
Principes de caractérisation des liaisons ligand-site récepteur .....	387
Méthodes expérimentales .....	389
Méthodes ne modifiant pas l'équilibre .....	389
Méthodes susceptibles de modifier l'équilibre .....	389
Analyse des interactions en temps réel .....	389
Mise en évidence de résidus fonctionnels et de zones d'interactions .....	390
Méthodes physiques .....	390
Méthodes chimiques .....	392
Méthodes biologiques .....	394
Étude des complexes protéiques .....	395
Méthodes d'étude des interactions protéine-protéine in vivo .....	395
Méthodes d'étude des interactions protéine-protéine in vitro .....	406

<b>Chapitre 26. Interactions acides nucléiques-protéines</b> , par B. HAINQUE.....	408
Diversité des objectifs et des approches méthodologiques .....	408
Place des méthodes de purification dans l'étude des interactions acides nucléiques-protéines.....	409
Place des méthodes de clonage dans l'étude des interactions acides nucléiques-protéines .....	410
Détermination des caractéristiques des interactions acides nucléiques-protéines .....	411
Méthodes d'étude des interactions ADN-protéines.....	412
Filtration sur membrane de nitrocellulose .....	412
Retardement sur gel .....	412
Balises moléculaires et FRET ou BRET .....	414
Empreinte in vitro (protection de l'ADN vis-à-vis de réactifs de clivage, enzymatiques ou chimiques) .....	415
Interférence par modification de nucléotides.....	419
Formation de liaisons covalentes ADN-protéines par irradiation UV .....	420
Empreinte in vivo par méthylation des purines .....	421
Identification des protéines de liaison à l'ADN par le système simple hybride .....	422
Identification des motifs nucléotidiques par sélection itérative et amplification par PCR des sites de liaison à partir d'un pool d'oligonucléotides de séquence variable .....	424
Exploration de la localisation génomique des protéines associées in vivo à la chromatine par immunoprécipitation ..	425
Méthodes d'étude des interactions ARN-protéines .....	427
Retardement sur gel .....	427
Empreinte in vitro (protection de l'ARN vis-à-vis de réactifs de clivage chimiques) .....	427
Formation de liaisons covalentes ARN-protéines par irradiation UV.....	428
Reconstitution in vitro et purification des complexes ARN-protéines .....	429
Identification des protéines de liaison aux ARN par le système triple hybride.....	429
Sélection in vitro des ARN fonctionnels .....	431
L'essor de nouvelles méthodes .....	431
<b>Liste des abréviations</b> .....	433
<b>Index</b> .....	437

# Avant-propos

Cette nouvelle version du livre original de Pierre Kamoun *Appareils et méthodes en biochimie*, réédité en 1997 dans sa dernière version sous le titre *Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire*, est l'aboutissement d'un profond remaniement et de mises à jour conséquentes, imposés par l'importance des développements, au cours de cette décennie, des méthodes analytiques tant en biochimie qu'en génétique moléculaire, voire dans toutes les sciences qui sont à leurs frontières. Le Professeur Pierre Kamoun nous a confié la lourde tâche d'une réédition qui offrirait plus de place aux méthodes actuelles ou émergentes et qui serait plus complète quant à son champ interdisciplinaire, sans néanmoins déborder vis-à-vis des méthodes d'étude de la cellule ou en physiologie et même en génétique, bien que les interfaces soient nombreuses.

Dès la première partie, une attention particulière a porté sur la préparation des réactifs, des échantillons biologiques et les bonnes pratiques de laboratoire, après un bref rappel sur la métrologie (science des mesures).

Dans la deuxième partie consacrée aux méthodes d'identification et de dosage des biomolécules, tous les chapitres ont été entièrement refondés en donnant une place importante à la spectrométrie de masse, aux méthodes utilisant la luminescence et aux méthodes électrochimiques et potentiométriques. Les méthodes chromatographiques sont largement détaillées ; les méthodes enzymatiques, immunologiques et électrophorétiques ont été réécrites en développant plus particulièrement les méthodes plus récentes telles l'électrophorèse capillaire et l'analyse protéomique.

La troisième partie est entièrement nouvelle ; en effet, nous avons tenu à présenter séparément les méthodes d'étude des macromolécules, méthodes tantôt chimiques, physicochimiques, physiques ou encore biologiques, dont certaines sont abordées dans les parties précédentes ; ces méthodes sont l'essence même de la biochimie à la frontière de la biophysique.

La quatrième partie, réservée aux méthodes d'étude en biologie moléculaire, a bénéficié d'un important remaniement et a été amendée de l'analyse transcriptomique liée au développement des puces à ADN.

Autre grande nouveauté, la cinquième partie est consacrée aux méthodes d'étude des interactions moléculaires ; cette problématique est au cœur des réflexions scientifiques actuelles et donne la part belle à la biologie moléculaire et à la biochimie des macromolécules traitées dans les deux parties précédentes.

L'ordre de ces cinq parties n'est donc pas le fruit du hasard ; il est fondé sur une graduation de l'étude des « petites » molécules inorganiques et organiques (chimie analytique classique) vers celle des macromolécules du vivant et de leurs interactions.

Du livre de Pierre Kamoun, nous avons en revanche retiré la dernière partie qui était dévolue à l'analyse statistique, à la fois pour des contraintes de place et parce que nous avons pensé, d'une part, que les méthodes statistiques sont devenues très complexes et qu'elles seront donc sans aucun doute beaucoup mieux traitées dans les ouvrages de mathématiques spécialisés en statistique, et, d'autre part, que l'approche mathématique, même si nous y faisons souvent référence, s'écarte de notre propos centré sur les molécules, « petites » et « grandes », du vivant.

Nous avons fait de notre mieux pour rendre ce texte intéressant et lisible pour le plus grand nombre d'entre nous, non seulement les étudiants des premier (L) et deuxième cycles scientifiques (M) tant en Sciences de la vie, Médecine, Pharmacie que dans les sections à connotation « biologique » des IUT et écoles d'ingénieurs, mais aussi les techniciens et les chercheurs des unités axées vers la biologie ou à l'interface biologie/physique/chimie. Gageons que les chapitres les plus « chimiques » ou « physiques » s'avèreront utiles aux biologistes en quête de savoir technologique, et que les chapitres plus proches de la biochimie et de la biologie moléculaire classiques apporteront une base de connaissance utile aux chimistes « purs » qui, dans leur recherche ou leur activité courante de laboratoire, doivent s'ouvrir au monde du vivant.

Chaque chapitre se termine par « Pour en savoir plus », avec des références bibliographiques (livres, revues ou articles) ; parfois s'y ajoutent des sites internet dont certains renvoient vers des firmes commerciales. Un index de plus de 2 000 termes, souvent avec plusieurs niveaux d'indexation, devrait permettre de retrouver rapidement les sections du texte afférentes à ce terme, ce qui peut amener à consulter plusieurs chapitres, d'une même partie ou de parties différentes.

Nous avons enfin cherché à garder l'esprit originel de l'ouvrage de Pierre Kamoun qui en a fait le succès : expliquer les principes des méthodes avec la rigueur suffisante pour en comprendre les aspects pratiques sans théoriser excessivement. Nous espérons que cette nouvelle édition apportera non seulement les éléments essentiels pour appréhender les méthodologies nouvelles, mais aussi qu'elle aidera le lecteur à envisager celles qu'il pourrait être amené à mettre en œuvre. Nous dédions cette nouvelle version bien évidemment au Professeur Pierre Kamoun que nous remercions sincèrement pour la confiance dont il nous a fait part ainsi qu'à nos maîtres biochimistes qui nous ont fait découvrir et aimer cette immense discipline qu'est la biochimie.

Bruno BAUDIN, Bernard HAINQUE  
Philippe LEFEBVRE

