البيوكيمياء . قواعد و تطبيقات في البيوتكنولوجيات
BIOCHIMIE. BASES ET APPLICATIONS EN BIOTECHNOLOGIES

تكوين
TAKWEEN

Liens utiles :
- Techniques-Sommaire : http://www.takween.com/techniques/techniques-biochimie.html
- Electrophorèse : http://www.takween.com/techniques/05_Electrophorese.html
- Isoenzymes-mutations : http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-mutations.pdf
- Isozymes. Principe de détection : http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-detection.pdf
- Isozymes : loci, allèles : http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-loci-alleles.pdf
- Marqueurs moléculaires basés sur la PCR : http://www.biotech-ecolo.net/diversite-genetique-mesures/marqueurs-moleculaires-PCR.html
- Marqueurs RAPD : http://www.takween.com/techniques/11_RAPD.pdf

---

UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DES SCIENCES SEMLALIA
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MARRAKECH

جامعة القاضي عياض
كلية العلوم السملالية
شعبة البيولوجيا
مراكش

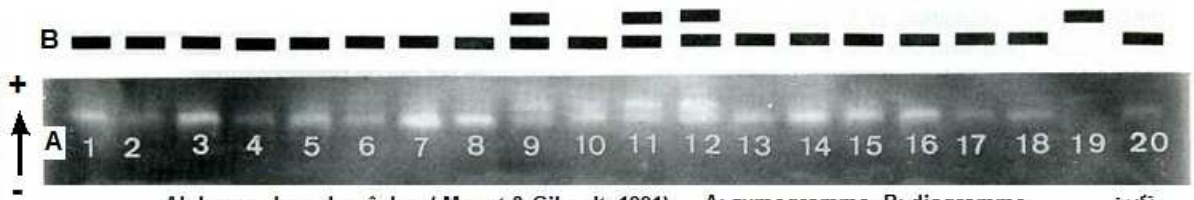
Année universitaire 2010-2011

CONTROLE **Elément de Module 'Technique d'électrophorèse et étude de la diversité génétique'** **Module 'Techniques d'analyses et Biostatistiques'** **Filière Science de la vie** **Semestre 5** **(Cours théorique et pratique de M. Baaziz)** **Durée 30 minutes**	**Nom & Prénom :** …… …… **Section :** ……

Réponses brèves à la fin de l'épreuve

Question 1.

Des extraits enzymatiques ont été préparés à partir des feuilles de 105 cultivars de pêcher (Monet & Gibault, Agronomie (1991), 11, 353-358). Après électrophorèse sur gel de polyacrylamide 7,5% à pH 8,0, les gels ont été révélés pour l'α amylase par incubation des gels pendant 1 heure et 30 minutes à 30℃ dans une solution d'amidon 1% préparée dans un tampon acétate pH 5,6 suivie de l'addition d'une solution d'iode-iodure de potassium. Les cultivars ont été répartis en 3 phénotypes électrophorétiques : 'cultivars à bande lente' (climat tempéré), 'cultivars à 2 bandes' et 'cultivars à bande rapide' (climat subtropical)



Alpha amylase du pêcher (Monet & Gibault, 1991) A: zymogramme, B: diagramme تكوين

1. Rappeler brièvement le principe de détection des isoenzymes après électrophorèse.
2. Interpréter le zymogramme de l'α amylase (nombre de loci, nature de l'enzyme, nombre d'allèles et inventaire des génotypes)
3. Quel peut être le rôle de l'étude électrophorétique de l' α amylase chez le pêcher ?

Question 2.

La technique RAPD (Polymorphisme de l'amplification aléatoire de l'ADN) a été largement utilisée, à partir de 1989, dans l'étude de la diversité génétique des espèces. En s'aidant de l'électrophorégramme ci-dessous, préciser les origines de la variabilité détectée par cette technique en passant d'un individu à un autre (1 -> 2, 1 -> 3 et 3 -> 2).

	Individu 1	Individu 2	Individu 3
-	_____	_____	_____
↓		_____	
+	_____		

Réponses brèves

Question 1:

1. Extraction et électrophorèse dans des conditions non dénaturantes, révélation par addition directe des substrats sur le gel ayant servi de support de séparation + ajout de colorants et réactifs réagissant avec les produits de la réaction enzymatique (lorsque cela est nécessaire).

2. Alpha amylase: (1 locus, enzyme monomérique, 2 allèles (A (rapide) et B (lent)). Les individus 1-8, 10, 13-18 et 20 sont homozygotes de génotype BB. L' individu 19 est homozygote (AA). Les individus 9, 11 et 12 sont hétérozygotes (génotype AB).

3. Le zymogramme de l'alpha amylase du pêcher permet de détecter les hybrides provenant de croisements dirigés entre les cultivars à climat tempéré et ceux à climat subtropical. L'amylase peut être ainsi proposée pour la détection précoce des hybrides (amylase à deux bandes) associant les traits agronomiques des cultivars poussant aux climats différents.

Question 2:

Les origines de la variabilité détectée par les marqueurs RAPD sont:

- Passage du profil 1 au profil 2: Mutation de type insection qui éloigne les sites de fixation de l'amorce à une distance $\leq$ 3000 pb. Il en résulte un fragment d'ADN de taille relativement élevée à faible mobilité.

- Passage du profil 1 au profil 3: Plusieurs explications peuvent être proposées pour expliquer le même résultat: **1/** Mutation de type insection qui éloigne les sites de fixation de l'amorce à une distance > 3000 pb. La Taq ne peut synthétiser de l'ADN, dans cette condition. Il en résulte un manque de fragment d'ADN, **2/** Délétion entrainant un rapprochement très accusé des sites de fixation de l'amorce. Il en résulte des fragments d'ADN de taille très courte éliminés hors gel pendant l'éléctrophorèse et **3/** Mutation ponctuelle causant la disparition d'un site de fixation de l'amorce.

- Passage du profil 3 au profil 2: Plusieurs explications peuvent être proposées pour expliquer le même résultat: **1/** Mutation de type déletion qui rapproche les sites de fixation de l'amorce à une distance $\leq$ 3000 pb donnant la possibilité à la Taq DNA polymérase de synthétiser un nouveau fragment d'ADN (fragment subnuméraire) et **2/** Mutation ponctuelle générant un nouveau site de fixation de l'amorce non loin du premier à plus de 3000 pb.