



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

تكوين
TAKWEEN

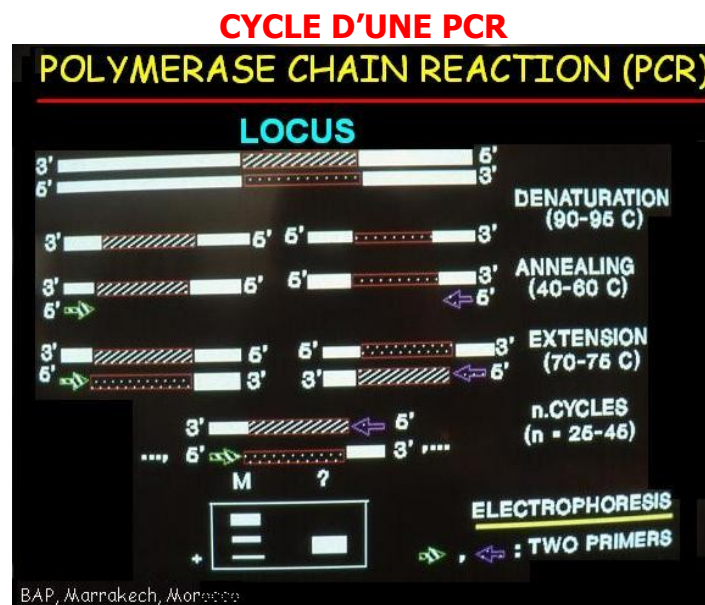
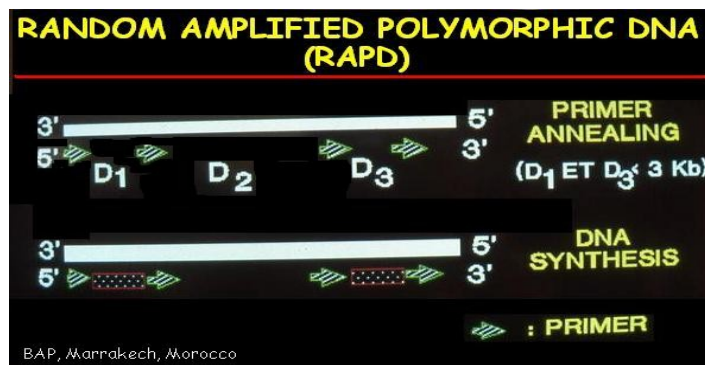
<http://www.takween.com>

[Isoenzymes-mutations](#) --- [Isoenzymes-principes](#) --- [Isoenzymes-origines](#) --- [Isoenzymes hétéromériques](#)
--- [RFLP](#) --- [Electrophorèse](#)

MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES BASES SUR LA PCR

POLYMORPHISME D'AMPLIFICATION ALEATOIRE DU DNA PAR PCR : TECHNIQUE RAPD.

La [technique RAPD](#) est basée sur la méthode PCR. L'amplification du DNA génomique est, cette fois ci, réalisée à partir d'amorces de séquences aléatoires (10 bases, environ), utilisées seules ou par couples. Lorsqu'une seule amorce aléatoire est utilisée, l'amplification a lieu une fois celle ci se fixe sur 2 sites complémentaires peu distants (maximum théorique de la PCR : 3000 pb).



EXEMPLE DE THERMOCYCLEURS



ORIGINES DU POLYMORPHISME DE TYPE RAPD

Les causes du polymorphisme de type RAPD sont:

- Disparition par mutation (mutation ponctuelle, crossing-over, insertion, délétion, ...) d'un ou plusieurs sites de fixation de l'amorce.
- Eloignement, par insertion, des sites de fixation de l'amorce à une distance supérieure à 3000 pb. Il en résulte la disparition de fragments de DNA.
- Rapprochement, par délétion, des sites de fixation de l'amorce à une distance inférieure ou égale à 3000 pb. Il en résulte l'apparition de fragments surnuméraires.
- Rapprochement très accusé des sites de fixation de l'amorce ne donnant lieu qu'à de petits fragments de DNA n'apparaissant pas sur le gel après électrophorèse.

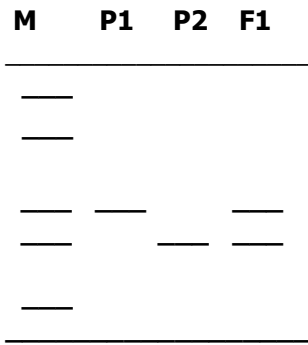
Il apparaît donc que les marqueurs RAPD sont en général **dominants**, contrairement aux marqueurs RFLP. Ainsi, tous les individus d'une génération F_1 , résultant d'un croisement de 2 lignées dont l'une possède un marqueur RAPD caractéristique, présentent le même marqueur (la présence d'un marqueur l'emporte sur son absence).

M	P1	P2	F1	
___	___	___	___	
___	___	Null	___	Pa
___	___	___	___	PP

M : marqueurs de taille du DNA
P₁, P₂ : parents
F₁ : première génération
PP : Présence, présence pour F₁
Pa : Présence, absence pour F₁

Une région hétérozygote (Pa : Présence, absence) présente généralement, une intensité faible, par rapport à une région homozygote (PP : Présence, Présence). Lorsqu'il devient nécessaire d'identifier les régions hétérozygotes, 2 marqueurs RAPD, suffisamment liés et amplifiés, chacun, à partir d'un parent différent, peuvent être utilisés dans toute analyse. Ainsi, la révélation simultanée des 2 fragments est une preuve de la présence d'une région hétérozygote, avec une incertitude correspondant à la distance de recombinaison entre les deux marqueurs.

La codominance des marqueurs RAPD est rarement rencontrée (Williams et *al.*, 1990). Elle est observée lorsqu'il y a une courte insertion ou délétion au niveau d'un locus, n'affectant que très peu l'éloignement ou le rapprochement des 2 sites de fixation de l'amorce.



M : marqueurs de taille du DNA
P₁, P₂ : parents
F₁ : première génération

Cette codominance des marqueurs RAPD peut être mise en évidence en utilisant un fragment RAPD, préalablement prélevé du gel et réamplifié, comme sonde dans les réactions d'hybridation du DNA. Cette sonde permet de confirmer l'identité des bandes de DNA transférées sur membranes, à partir d'un gel de séparation de fragments RAPD. Ainsi, les similitudes de séquences portées par 2 bandes migrant sur des positions différentes (tailles différentes), sont détectées. Ceci permet de considérer les 2 bandes comme un seul marqueur codominant. En effet, le polymorphisme détecté dans ce cas concerne la taille des fragments au lieu de leur présence ou absence.

REFERENCES

WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 18, 6531-6535.

[Isoenzymes-mutations](#) --- [Isoenzymes-principes](#) --- [Isoenzymes-origines](#) --- [Isoenzymes hétéromériques](#)
--- [RFLP](#) --- [Electrophorèse](#)