



http://www.geocities.com/bap_laboratory



<http://www.takween.com>

TECHNIQUES DE SEPARATION ET D'ANALYSE EN BIOCHIMIE ET MARQUAGE DE LA DIVERSITE GENETIQUE

Cours théorique et pratique: M. BAAZIZ
baaziz@ucam.ac.ma

TRAVAUX DIRIGES

RELATIFS A L'ELECTROPHORESE ET LE MARQUAGE DE LA DIVERSITE GENETIQUE

EXERCICE 1.

Une population de jeunes plants issus d'un croisement entre le prunier (*Prunus salicina*) (برقوق) et l'abricotier (*Prunus armeniaca*) (خوخ) a été étudiée pour son polymorphisme enzymatique montré par le système 'peroxydases cathodiques' (POX). Pour cela, les feuilles prélevées de jeunes plants sont broyées séparément dans 60 µl d'un tampon d'extraction composé de 0,01 M Tris-HCl (pH 7,15), 3 mM DTE et 5% sucrose. Les extraits sont soumis à une électrophorèse sur gel d'amidon 11%. Le tampon du gel est constitué de 0,01 M d'Histidine (PM Histidine = 155,2). Le tampon d'électrodes contient 0,135 M Tris (préparé à partir d'une solution de Tris 0,5 M) et 0,043 M d'acide citrique (préparé à partir d'une solution d'acide citrique 0,1 M). Le pH des deux tampons est ajusté à 7,0 à l'aide d'une solution 1 M d'acide citrique.

Après révélation, le Zymogramme des POX obtenu montre 3 phénotypes électrophorétiques appelés arbitrairement A, B et C (voir figure).

	Phénotype A	Phénotype B	Phénotype C
+	_____	_____	_____
-	_____	_____	_____

Le prunier et l'abricotier présentent respectivement les phénotypes B et C.

- 1 / Rappeler brièvement, le principe de l'analyse des isoenzymes par électrophorèse.
- 2 / Quelle peut être la nature des isoenzymes codées par le gènes gouvernant les peroxydases cathodiques. Faire un inventaire des génotypes correspondant à tous les phénotypes.
- 3 / Quel est l'intérêt du système enzymatique des 'peroxydases cathodique' dans cette étude.
- 4 / Comparer brièvement les marqueurs isoenzymatiques et ceux basés sur la technique PCR comme la méthode RAPD.

Voir Réponses succinctes à la fin de ce Document uniquement après avoir terminé vos Exercices

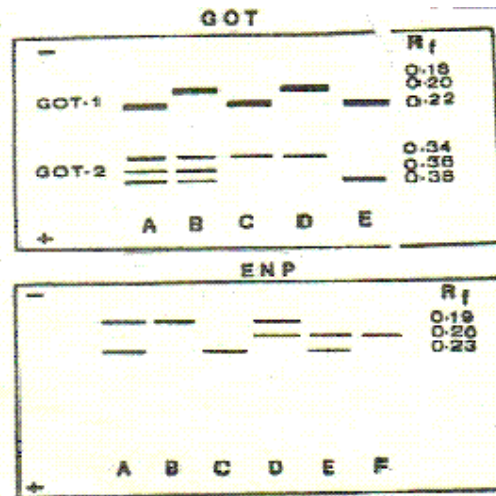
EXERCICE 2.

Trois populations F1 de jeunes plants de palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., sont obtenues à partir de 3 lots de graines provenant des croisements dirigés suivants:

Lot de graines	Croisements		Nombre de plants F1
	Cultivar	Mâle	
1	X ?	M-2	128
2	Aguellid (AGL)	M-1	164
3	Iklane (IKL)	Y ?	60

L'analyse par électrophorèse du polymorphisme enzymatique des glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) et des endopeptidases (ENP) a été réalisée à partir d'extraits enzymatiques de feuilles. Elle a permis d'obtenir 5 et 6 phénotypes électrophorétiques respectifs pour les deux enzymes. Deux loci *GOT-2* et *ENP* sont ainsi mis en évidence. Les différents phénotypes obtenus (A-F) sont résumés dans les diagrammes ci contre.

Les cultivars AGL et IKL (parents femelles) présentent, respectivement, des phénotypes E et D pour ENP et D et A pour GOT. Les parents mâles M-1 et M-2 ont comme phénotypes respectifs A et B pour ENP et E et A pour GOT. Les fréquences des phénotypes isoenzymatiques au niveau des trois populations de jeunes plants sont données dans le tableau ci-dessous.



Phénotypes isoenzymatiques

Populations F1

	1	2	3
GOT A	0,45	1,00	0,29
B	-	-	0,20
C	0,24	-	0,19
D	0,02	-	0,32
E	0,29	-	-
ENP A	-	0,25	0,25
B	0,45	-	-
C	-	0,20	-
D	0,55	0,21	0,28
E	-	0,34	0,26
F	-	-	0,21

1. Quelle peut être la nature des isoenzymes codées au niveau des loci *GOT-2* et *ENP*.
2. Sur la base des 2 loci, faire un inventaire des génotypes dans les 3 populations.
3. Sachant que les allèles mis en jeu sont transmis selon la loi de Mendel, quels peuvent être les génotypes du parent femelle X de la population 1 et du parent mâle Y de la population 3.

... Voir Réponses succinctes à la fin de ce Document uniquement après avoir terminé vos Exercices

REPONSES SUCCINCTES

QUESTION 1.

1. Le principe de détection des isoenzymes est basé sur la révélation *in situ* sur gel des différentes formes d'une enzyme en apportants les substrats nécessaires. Donner l'exemple d'une hydrolase, par exemple.
2. Nature dimèrePhénotype A : génotype AB, Phénotype B : génotype AA, Phénotype C : génotype BB.
3. Détection précoce d'hybrides
4. Comparaison sur les étapes d'extraction, d'électrophorèse et de Révélation (voir cours)

QUESTION 2

1. GOT-2 : nature dimère, ENP : nature monomère
- 2.

	Population 1 (N= 128)	Population 2 (N= 164)	Population 3 (N= 60)
<u>GOT-2</u>			
AA	0,29	0,00	0,00
AB	0,45	1,00	0,49
BB	0,26	0,00	0,51
<u>ENP</u>			
AA		0,20	0,00
AB		0,34	0,26
BB		0,00	0,21
AC		0,25	0,25
BC	0,55	0,21	0,28
CC	0,45	0,00	0,00

3.

X ?

Y ?

GOT-2

AB

BB

ENP

BC

AB

00_TechniquesSommaire, 01_TechniquesPolarite, 02_TechniquesTaille,
03_TechniquesForme, 04_TechniquesIonicite, 05_Electrophorese,
06_Isozymes1, 07_Isozymes2, 08_Isozymes3, 09_Isozymes4, 10_RFLP,
11_RAPD, 12_RAPD, 13_AFLP, 14_TP ← /