



<http://baplaboratory.maroc.to>



<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](mailto:baaziz@ucam.ac.ma)

# **LES DIFFERENTS MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES**

## **MARQUEURS ISOENZYMATIQUES**

### **INTRODUCTION**

L'évolution moléculaire a permis de montrer que certaines protéines (ensemble d'acides aminés), comme les cytochromes ou les hémoglobines chez plusieurs organismes, ont évolué à un rythme constant par substitutions successives d'acides aminés. Ceci signifie que des mutations 'tolérables' par le DNA apparaissent à un taux constant dans le temps. Aussi, une population P, étudiée pour un locus donné, ne sera plus identique à elle-même après un intervalle de temps  $t$ . Son changement peut être prévisible en considérant les paramètres  $t$  (en années) et  $\infty$ , taux de substitution par année d'un acide aminé par un autre pour une protéine moyenne dans la population P. Les valeurs de  $\infty$  sont de l'ordre de  $10^{-8}$  à  $10^{-9}$ /an/site d'acide aminé.

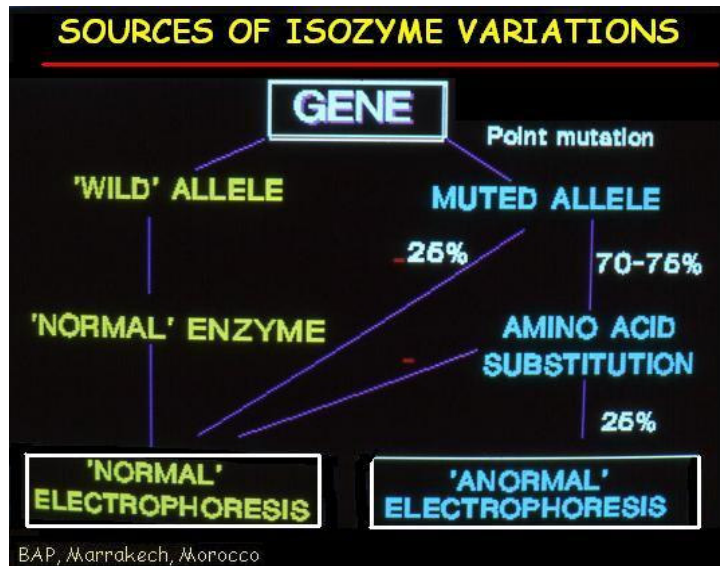
L'analyse des isoenzymes par électrophorèse révèle la différence d'états alléliques par molécule de protéine entière (non pas par acide aminé).

### **ORIGINES DE LA VARIATION DETECTEE PAR ELECTROPHORESE**

Les isoenzymes correspondent à différentes formes d'une même enzyme, catalysant la même réaction, mais dont les propriétés physico-chimiques (charge électrique, taille,...) sont différentes. Les isoenzymes peuvent être d'origine cytosolique ou plastidique. Leur séparation par électrophorèse, sur gel d'amidon ou de polyacrylamide, est due à plusieurs facteurs.

### **Modification de la charge électrique.**

La modification de la charge d'une protéine suite à un changement de la structure primaire, peut résulter d'une mutation ponctuelle, par exemple. Les conséquences qui en résultent peuvent donner des électrophorèses "anormales" (Jacobs, 1975). Seules les substitutions d'acides aminés qui diffèrent par leurs charges peuvent être détectées. Une proportion de 25% seulement, de substitution conduit à un changement de charges électriques.



\* Acides aminés "acides" (charge négative) : Ac.aspartique et Ac.glutamique.  
 Acides aminés "basiques" (charge positive) : Lysine, Arginine et Histidine.

Ce sont les radicaux R de la structure primaire des protéines qui affectent la charge électrique à l'ensemble de la molécule.

Les 20 acides aminés peuvent être répartis en 3 groupes selon la charge électrique des radicaux R

**Composition en Acides aminés (AA) d'une protéine moyenne** (d'après King, J.L. & Jukes, T.H. 1969. Non-darwinian evolution. Random fixation of selectively neutral mutations. *Sciences* 164, 788-798.). Modifié par addition de pl.

Groupe	Acides aminés (pI)	% protéine moy.	Caractéristiques du groupe
'AA.basiques'	Lysine (9,47) Arginine (10,76) <b>Total</b>	7,2 4,2 <b>11,4</b>	Les AA. peuvent être neutre ou chargés + selon le pH du milieu.
'AA.neutres'	Serine (5,68) Leucine (6,04) Glycine (6,06) Alanine (6,10) Valine (6,00) Threonine (6,53) Proline (6,30) Isoleucine (6,04) Phénylalanine (5,91) Asparagine (5,41) Glutamine (5,65) Tyrosine (5,63) Cystéine (5,02) Histidine (7,64) Méthionine (5,74) Tryptophane (5,88) <b>Total</b>	8,1 7,6 7,4 7,4 6,8 6,2 5,0 3,8 4,0 4,4 3,7 3,3 3,3 2,9 1,8 1,3 <b>76,9</b>	Les chaînes latérales sont non ionisables. Les AA. sont électrostatiquement neutres une fois inclus dans une chaîne peptidique. Les AA. HIS, CYS et TYR ont des radicaux R ionisables. Mais ils ne le sont pas dans les conditions des pH utilisés en électrophorèse.
'AA.acides'	Acide aspartique (2,98) Acide glutamique (3,08) <b>Total</b>	5,9 5,8 <b>11,7</b>	Groupe R à fonction carboxylique. Les AA peuvent être neutres ou chargés négativement.
	<b>Total général</b>	<b>100%</b>	

Une protéine composée des 3 groupes d'AA. Aura une charge nette négative ou positive dépendant de la balance des charges en fonction du pH et de l'exposition des radicaux selon l'environnement et l'association des polypeptides. Un pH faible est en faveur des charges +. Un pH élevé est en faveur des charges -

### **Modifications post-traductionnelles.**

Les modifications post-traductionnelles conduisant aux associations de sous-unités et la mise en place de structures tertiaires ou quaternaires, formation de complexes avec des glucides et des acides nucléiques, adénylation, phosphorylation, dégradation sélective...

[00\\_TechniquesSommaire](#), [01\\_TechniquesPolarite](#), [02TechniquesTaille](#),  
[03\\_TechniquesForme](#), [04\\_Techniqueslonicite](#), [05\\_Electrophores](#) ←  
/ → [07\\_Isozymes2](#)