



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

ORIGINES DE LA DIVERSITE DES ISOENZYMES

Les causes de l'apparition des isoenzymes sont de **3 ordres** :

- Existence de plusieurs loci codant pour des chaînes polypeptidiques différentes.
- Existence d'allèles multiples au niveau d'un seul locus déterminant, ainsi, des versions différentes de la chaîne polypeptidique.
- Existence de modification post-translationnelles de la structure enzymatique donnant, ainsi, des 'isoenzymes secondaires'.

Loci multiples à l'origine des isoenzymes

Il paraît que 25% des enzymes ont à leur origine plusieurs loci qui codent pour différentes chaînes polypeptidiques d'une même enzyme. Cet état est attribué aux duplications des gènes au cours de l'évolution. Ces gènes dupliqués divergent ensuite dans leur structure grâce aux mutations. Plus que 4 loci ont été décrits pour certaines enzymes.

Les polypeptides résultant de l'expression des loci peuvent être synthétisés avec la même vitesse et se trouvent, en même temps, dans la même cellule. Dans certains cas, il existe une différence dans la vitesse de leur synthèse dans les cellules de différents tissus. La vitesse de synthèse peut être fonction du stade de développement (exemple **LDH**).

Allélisme multiple au niveau des loci

Au niveau de chaque locus, un ou plusieurs allèles peuvent exister dans une population d'individus. Chaque allèle codant pour une version structurale différente d'une même chaîne polypeptidique. Par conséquent, les structures primaires des isoenzymes différeront d'un individu à un autre, selon les allèles présents au niveau d'un locus donné.

Le profil électrophorétique dépend des états suivants :

- * Nombre d'allèles présents au niveau du locus.
- * Etat monocaryotique ou dicaryotique de la cellule.
- * Ploïdie (haploïde, diploïde, polyploïde).
- * Arrangement génétique (homozygote, hétérozygote) de l'organisme.
- * Structure quaternaire de l'enzyme (monomère, dimère,...).
- Les individus haploïdes ou homozygotes donnent des zymogrammes simplifiés répondant à l'expression d'un seul allèle.

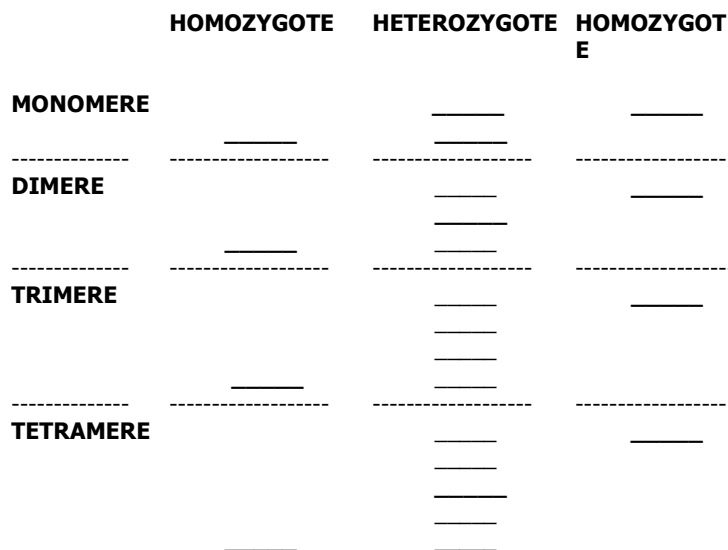
Cas de 2 allèles

- Une enzyme monomérique (● ou ■) donnera, chez un organisme diploïde hétérozygote 2 bandes (● et ■). L'homozygote en aura une seule (● ou ■).
- Une enzyme dimérique (●●,●■ ou ■■) donnera, chez un organisme diploïde hétérozygote 3 bandes (●●,●■ et ■■).

	Homozygote	Hétérozygote	Homozygote
Enz.monomérique	— ●	— ● — ■	— ■
Enz.dimérique	— ●●	— ●● — ●■ — ■■	— ■■

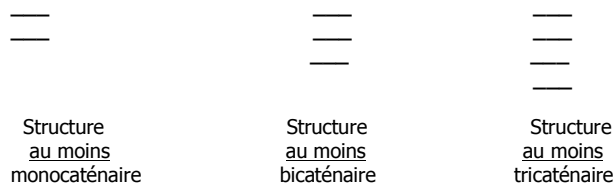
Pour une enzyme dimérique, la bande intermédiaire (●■) est plus intense que les bandes extrêmes. Si les chaînes polypeptidiques produites par les 2 allèles s'associent au hasard, la moitié (1/2) des molécules enzymatiques seront des hétéromères et un quart (1/4) correspondra à chaque homodimère.

En général, si le nombre de sous-unités identiques présentes dans la structure d'une isoenzyme d'un homozygote est n , le nombre d'isoenzymes présentes dans un hétérozygote sera $n + 1$.



Remarque :

Tous les hétéropolymères ne sont pas nécessairement formés. Ainsi, un zymogramme à 4 bandes permet de conclure que l'enzyme est constituée d'au moins 3 sous-unités.



Cas de 3 allèles

Enzymes monomériques (Z à 1 ou 2 bandes). 3 allèles (A₁, A₂, A₃).

Z	1	2	3	4	5	6
A ₃ A ₂ A ₁	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Génotypes:	A₃A₃ Homoz.	A₂A₂ Homoz.	A₁A₁ Homoz.	A₁A₃ Hétéroz	A₂A₃ Hétéroz	A₁A₂ Hétéroz.

Enzymes dimériques (Z à 1 ou 3 bandes). 3 allèles (A₁, A₂, A₃).

Z	1	2	3	4	5	6	Compos.band
A ₃ A ₂ A ₁	_____	_____	_____	_____	_____	_____	(A ₃ , A ₃) (A ₂ , A ₃) (A ₁ , A ₃) / (A ₂ , A ₂) (A ₁ , A ₂) (A ₁ , A ₁)
Génotypes:	A₃A₃ Homoz.	A₁A₃ Hétéroz	A₁A₁ Homoz	A₂A₂ Homoz.	A₂A₃ Hétéroz	A₁A₂ Hétéroz.	

00_TechniquesSommaire, 01_TechniquesPolarite, 02_TechniquesTaille,
03_TechniquesForme, 04_TechniquesIonicite, 05_Electrophorese,
06_Isozymes1, 07_Isozymes2 ←
/ → 09_Isozymes4