



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](#) --- [Electrophorèse](#)

POLYMORPHISME DE LONGUEUR DES FRAGMENTS DE RESTRICTION DU DNA (RFLP)

La technique RFLP repose sur la digestion d'un DNA cible par une ou plusieurs enzymes de restriction spécifiques des sites de restriction portés par le DNA. Après électrophorèse, les fragments séparés sont hybridés avec un DNA sonde, provenant souvent de banques de DNA génomique ou complémentaire. Cette sonde peut provenir d'une espèce proche de l'espèce à étudier (sonde hétérologue).

Si deux individus diffèrent par un ou plusieurs sites ou, même, par la distance séparant deux sites identiques consécutifs, il se crée une différence dans la longueur des fragments générés par l'enzyme de restriction. Les milliers de fragments obtenus après digestion enzymatique et révélés par le bromure d'éthidium (BET), montrent sous UV un seul voile continu (smear). Une fois transféré sur une membrane de nylon ou de nitrocellulose (Southern, 1975) et hybridé par un DNA sonde, le DNA cible digéré est visualisé par autoradiographie, si la sonde est marquée au P32 (sonde chaude) ou par méthodes biochimiques si la sonde est non radioactive (sonde froide).

RFLP MARKERS

RFLP (RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM) MARKERS ARE OBTAINED FOLLOWING STEPS:

1. DIGESTION OF DNA BY RESTRICTION ENZYMES WHICH RECOGNIZE SHORT (3-9) SEQUENCES. IT RESULTS MANY DNA FRAGMENTS.
2. SEPARATION OF DNA FRAGMENTS BY ELECTROPHORESIS.
3. TRANSFER OF DNA FRAGMENTS FROM GEL TO NYLON MEMBRANE (SOUTHERN BLOTTING).
4. HYBRIDIZATION OF DNA FRAGMENTS WITH LABELLED PROBES

SOURCES OF RFLP POLYMORPHISM :

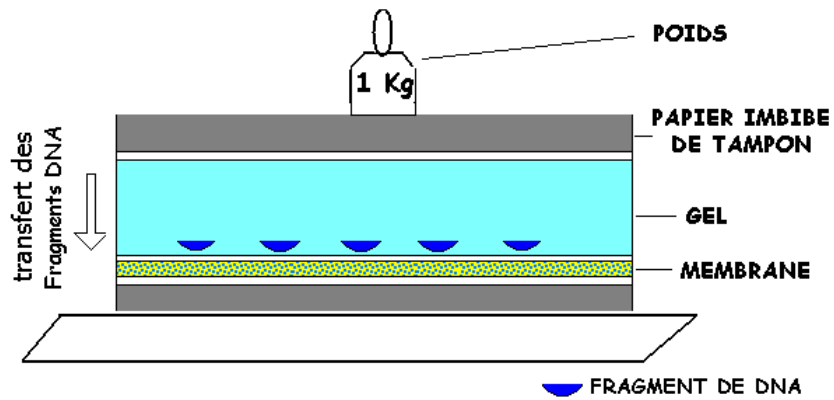
1. GAINS OR LOSSES OF RESTRICTION SITES.
2. INSERTION/DELETION MUTATIONS.

BAP, Marrakech, Morocco

Les causes du polymorphisme sont :

- perte ou gain d'un site de restriction
- mutation de type insertion-déletion

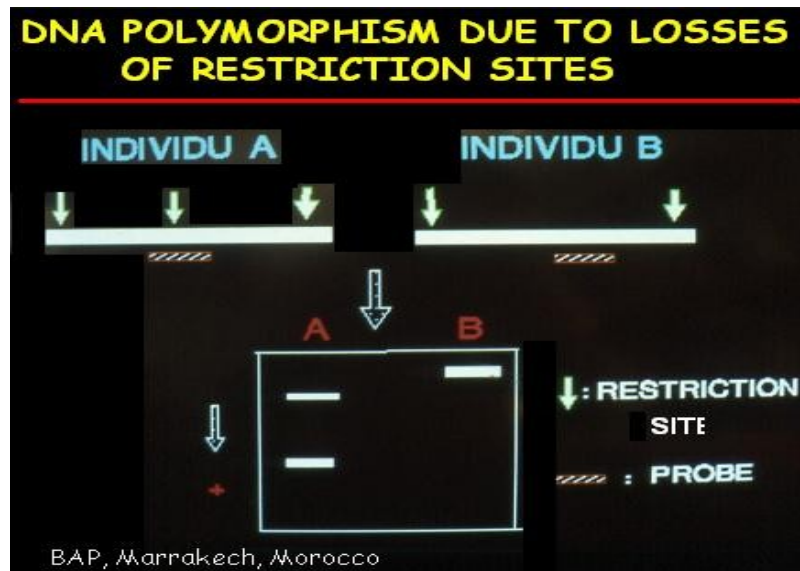
Dans les deux cas les loci sont généralement bialléliques et l'expression des allèles est codominante.



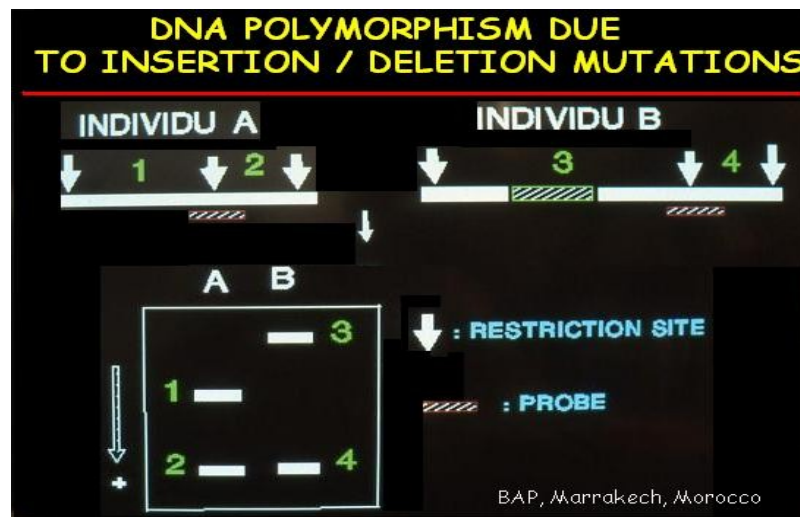
EXEMPLE DE TRANSFERT DE FRAGMENTS DE DNA SUR MEMBRANE A PARTIR D'UN GEL (SOUTHERN BLOTTING)

BAP

POLYMORPHISME DU A LA DISPARITION D'UN SITE DE RESTRICTION



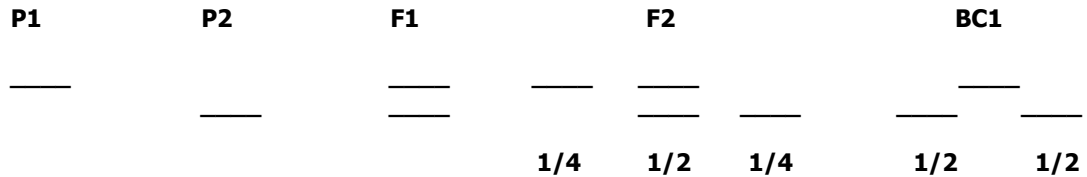
POLYMORPHISME DU A UNE MUTATION DE TYPE "INSERTION-DELETION"



PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES MARQUEURS RFLP.

- Marqueurs reflétant un polymorphisme de longueur de fragment
- Marqueurs codominants

SEGREGATION DES MARQUEURS RFLP.



VALEURS COMPARATIVES DES MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET MOLECULAIRES.

Types de marqueurs	Nombre	Déterminisme	Effet de l'environnement	Faisabilité	Coûts
Morphologie	rare	Dominants	Oui	++++	Culture de plantes
Isoenzymes	50	Codominants	Non/Oui	+++	+
RFLP	Illimités	Codominants	Non	+	+++
Specific PCR,					
CAPS	Illimités	Codominants	Non	++	++++
RAPD	Illimités	Dominants	Non	+++	++++

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