



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

تكوين  
TAKWEEN

<http://www.takween.com>

Techniques-Sommaire : <http://www.takween.com/techniques/techniques-biochimie.html>  
Electrophorèse : [http://www.takween.com/techniques/05\\_Electrophorese.html](http://www.takween.com/techniques/05_Electrophorese.html)  
Travaux dirigés (TD) : [http://www.takween.com/techniques/15\\_TD.pdf](http://www.takween.com/techniques/15_TD.pdf)  
Travaux dirigés (TP) : [http://www.takween.com/techniques/14\\_TP.pdf](http://www.takween.com/techniques/14_TP.pdf)  
Isoenzymes-mutations : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-mutations.pdf>  
Isozymes. Principe de détection : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-detection.pdf>  
Isozymes : loci, allèles : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-loci-alleles.pdf>  
RFLP : [http://www.takween.com/techniques/10\\_RFLP.pdf](http://www.takween.com/techniques/10_RFLP.pdf)  
RAPD : [http://www.takween.com/techniques/11\\_RAPD.pdf](http://www.takween.com/techniques/11_RAPD.pdf)  
SSR (microsatellites) : <http://www.takween.com/techniques/microsatellites-SSR-marqueurs.pdf>

## MARQUEURS MOLECULAIRES BASES SUR LA PCR

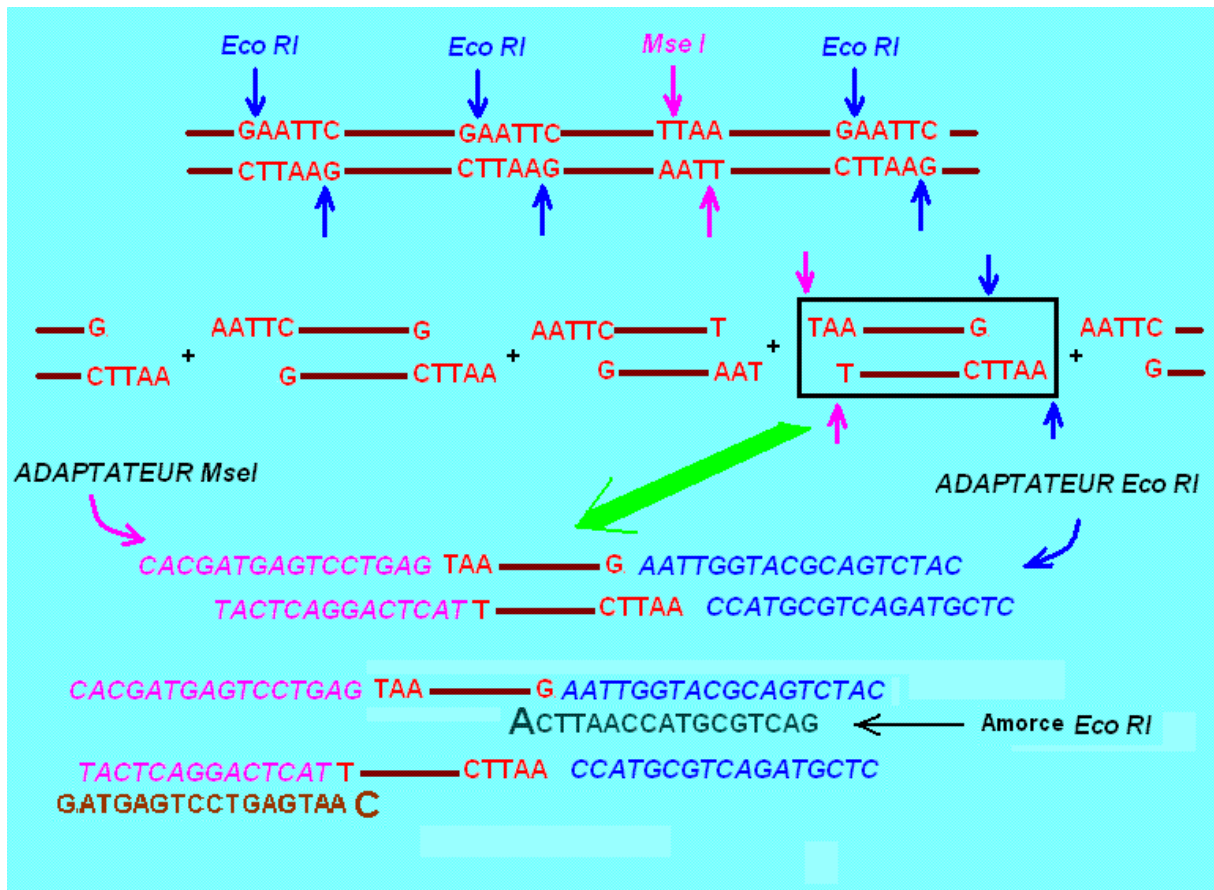
Cours théorique et pratique: M. BAAZIZ ([baaziz@ucam.ac.ma](mailto:baaziz@ucam.ac.ma))

### POLYMORPHISME D'AMPLIFICATION DE FRAGMENT DE DNA: TECHNIQUE AFLP.

La technique **AFLP** (Amplified Fragment Length Polymorphism, Vos *et al.*, 1995) est fondée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de sites de restriction et d'hybridation d'amorces arbitraires. Cette technique utilise à la fois les enzymes de restriction et l'amplification PCR. On distingue les étapes suivantes :

- L'ADN génomique est coupé par deux enzymes de restriction.
- Des adaptateurs de séquences connues et spécifiques des enzymes de restriction utilisées, sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction générant ainsi une matrice pour l'amplification.
- Une première amplification (pré-amplification) est réalisée à l'aide d'amorces de séquences complémentaires à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction.
- La deuxième amplification (amplification sélective) utilise des amorces identiques aux premières mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires (de 1 à 3 nucléotides). Ainsi, seuls sont amplifiés les fragments possédant les bases complémentaires de ces bases arbitraires. Ces amorces sélectives permettent de réduire le nombre de fragments amplifiés à une centaine.
- Ces fragments sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide dénaturant puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marquage radioactif ou fluorescent réalisé lors de l'amplification sélective.

C'est la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus. Elle constitue donc le marquage de type AFLP (voir fig.).



- Techniques-Sommaire : <http://www.takween.com/techniques/techniques-biochimie.html>  
 Electrophorèse : [http://www.takween.com/techniques/05\\_Electrophorese.html](http://www.takween.com/techniques/05_Electrophorese.html)  
 Travaux dirigés (TD) : [http://www.takween.com/techniques/15\\_TD.pdf](http://www.takween.com/techniques/15_TD.pdf)  
 Travaux dirigés (TP) : [http://www.takween.com/techniques/14\\_TP.pdf](http://www.takween.com/techniques/14_TP.pdf)  
 Isoenzymes-mutations : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-mutations.pdf>  
 Isozymes. Principe de détection : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-detection.pdf>  
 Isozymes : loci, allèles : <http://www.takween.com/techniques/isoenzymes-loci-alleles.pdf>  
 RFLP : [http://www.takween.com/techniques/10\\_RFLP.pdf](http://www.takween.com/techniques/10_RFLP.pdf)  
 RAPD : [http://www.takween.com/techniques/11\\_RAPD.pdf](http://www.takween.com/techniques/11_RAPD.pdf)  
 SSR (microsatellites) : <http://www.takween.com/techniques/microsatellites-SSR-marqueurs.pdf>