

UTILISATION DES ENZYMES DE RESTRICTION ET POLYMORPHISME GENIQUE

Les enzymes de restriction coupent les séquences d'ADN en des sites composés de quelques bases et qui leur sont spécifiques. Ils sont appelés sites de restriction. Certaines formes de rétinite pigmentaires (destruction progressive des cellules visuelles qui conduit à la cécité) sont dues à des formes anormales d'un pigment visuel protéique : la rhodopsine. L'allèle muté est dominant dans la plupart des cas étudiés.




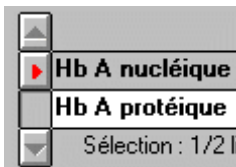
On cherche à trouver des enzymes de restriction permettant le dépistage des allèles responsables de la maladie.

Matériel :

- logiciel ANAGENE ;
- fiche technique d'ANAGENE ;
- séquences alléliques du gène codant pour la rhodopsine (pigment rétinien), disponibles en fichier ANAGENE « RHODO.EDI » dans le répertoire « Sauve » (non fournies dans cette version de démonstration)
- fichier d'enzymes de restriction « ENZRHO.ZYM », dans le répertoire « Sauve » (non fourni dans cette version de démonstration).

Activités et déroulement des activités	Capacités	Barème
1- Sachant que chaque enzyme de restriction est spécifique d'une séquence particulière de l'ADN (site de restriction), justifier l'utilisation des enzymes de restriction pour dépister un allèle muté.	Comprendre la manipulation	2
2- Charger avec ANAGENE, le fichier RHODO.EDI puis utiliser les fonctionnalités du logiciel pour comparer l'allèle fonctionnel de la rhodopsine (rhonorm) aux autres allèles. Noter précisément la ou les différences et leurs emplacements.	Utiliser un logiciel de traitement de données	6
3- Traiter les allèles du gène par l'action des enzymes de restriction disponibles dans le fichier « ENZRHO.ZYM » pour obtenir la carte des sites de restriction et le tableau de comparaison (choisir un affichage mosaïque). Appeler l'examineur pour vérification	Appliquer une démarche explicative	2
4- Choisir une enzyme qui permette de distinguer l'allèle fonctionnel (rhonorm) d'un des allèles mutés et justifier vos choix d'enzyme et d'allèle.	Traduire des informations par un schéma	4
5- Schématiser les cartes de restriction obtenues pour l'allèle fonctionnel et l'allèle choisi avec les sites d'action d'une des enzymes sélectionnées. Compléter ce schéma en reportant les sites d'action de l'enzyme sur les deux allèles. Appeler l'examineur pour vérification	Utiliser un logiciel de traitement de données	3
6- En utilisant les cartes de restriction, identifier et localiser la mutation à l'origine de la différence du nombre de sites de restriction. Appeler l'examineur pour vérification	Appliquer une démarche explicative	2
7- Rédiger une conclusion pour répondre au problème formulé en introduction.	Gérer et organiser le poste de travail	1
8- En fin d'épreuve, fermer le logiciel.		

UTILISATION DES ENZYMES DE RESTRICTION ET POLYMORPHISME GENIQUE

Les icônes de la barre d'outils		Numérotation des éléments d'une séquence	
<div></div>		<div></div>	<p>Echelle de repérage des nucléotides</p> <p>Attention au décalage des numéros</p> <p>On passe de l'échelle numérotant les nucléotides à celle des acides aminés en cliquant sur l'échelle</p>
		Bulles d'aide Pour vous aider, une bulle d'aide s'affiche sur l'objet pointé par le curseur de la souris	
Sélectionner une séquence		Traiter par action enzymatique 	
<div></div>	<p>Cliquer sur le bouton de sélection. La séquence sélectionnée s'inscrit sur fond blanc. On peut sélectionner plusieurs séquences. La flèche rouge indique la ligne pointée sur laquelle il est possible d'obtenir des informations ou qu'il est possible de déplacer à l'aide des flèches grises haut-bas.</p> <p>Les flèches grises en haut et en bas permettent donc de déplacer la séquence sélectionnée et ainsi de choisir la séquence de référence qui est la première de la liste.</p>	<p>Sélectionner au préalable les séquences d'ADN. Faire Traiter / Action enzymatique puis sélectionner les enzymes dans la banque ou par Fichier.</p> <p>Choisir le type de représentation : graphique pour obtenir la carte des sites de restriction et/ou tableau du nombre de sites.</p> <p>Cliquer sur OK.</p>	
Représenter graphiquement des sites de restriction		Mode d'affichage de la carte de restriction	
<p>La représentation graphique affiche la carte de restriction.</p> <p>La représentation tableau affiche le nombre de sites de restriction pour plusieurs enzymes.</p> <p>La première s'affiche en général en masquant la seconde : décaler la fenêtre pour voir les 2.</p>		<p>Les sites de restriction s'affichent en rouge.</p> <p>Pour observer le mode de coupure de l'enzyme, faire glisser le curseur vert sur le trait rouge matérialisant la localisation du site de restriction.</p>	
Comparer les séquences		<p>Attention : les fenêtres ouvertes sont parfois masquées car empilées les unes sur les autres. Utiliser le menu Fenêtre/Mosaïque.</p>	
<p>La séquence référence est toujours celle qui est placée en premier :</p> <ul style="list-style-type: none">-une comparaison par alignement qui permet de comparer avec discontinuités, en éliminant les décalages résultant de délétion(s) ou d'insertion(s)-une comparaison simple, point par point des séquences sans aucun alignement.			