

# UE11 – Analyse du génome



## Résumé de la Ronéo 1

### I. Extraction du matériel génétique

Elle se fait à partir d'une **cellule nucléée** (PAS UN GLOBULE ROUGE).  
Le plus souvent à partir d'un *prélèvement sanguin*.

- 1) Prélèvement de quelques ml de sang total sous anticoagulant (= **EDTA**) ;
- 2) Lyse des GR avec une solution hypotonique ;
- 3) Récupération du culot de globules blancs, resuspendu avec du détergent et des protéinases k ;
- 4) Extraction de l'ADN au **phénol chloroforme** (solubilité différentielle entre ADN/protéines)  
(agitation 10 min – centrifugation 10 min – récupération de la phase aqueuse)
- 5) Précipitation à l'éthanol 95° froid avec du sel → apparition d'une méduse d'ADN.

La conservation de l'ADN se fait pendant plusieurs années dans des *DNAtèques*.

L'étude de l'**ADN** correspond à l'étude du **patrimoine génétique** contrairement à l'étude de l'**ARN** qui correspond à l'étude spécifique de la cellule (on analyse **l'expression d'un gène**).

L'ARN est plus difficile à étudier (à peu près les mêmes étapes que pour l'ADN).

### II. PCR : amplification en chaîne par la polymérase

C'est une **technique de base** pour obtenir en grande quantité une région **spécifique** d'ADN à étudier.

Cette technique utilise la **TAQ** = bactérienne. C'est une ADN polymérase qui résiste à la chaleur.

Elle est très sensible et présente un gros risque de contamination d'où l'utilisation d'un circuit monodirectionnel.

⇒ Elle se fait en 3 étapes, n fois : **Dénaturation/Hybridation/Elongation**

La PCR nécessite :

- ✓ 100 ng d'ADN ;
- ✓ 2 amorces (18 à 20 nt → bornes d'amont et d'aval) ;
- ✓ désoxynucléotides ;
- ✓ Un tampon ;
- ✓ Taq polymérase.

La PCR se vérifie via **électrophorèse** (gel d'agarose / acrylamide + champ électrique), qui se visualise sous UV.

Se fait à partir d'une très faible quantité d'ADN (1 cellule).

### III. Enzymes de restriction

Ce sont des *endonucléases bactériennes* qui coupent l'ADN double brin de façon **spécifique et reproductible**.

On utilise les enzymes de **type 2** (3 types existent), qui coupent 4 à 8 paires de bases dans des séquences palindromiques. Elles coupent des bouts *francs* ou des bouts *cohésifs*.

### IV. Génétique médicale

Une maladie rare (en général monogénique) est inférieure à 1/2000.

**L'achondroplasie** : c'est une maladie **autosomique dominante**. Dans 90% des cas il s'agit d'une **néomutation**. La forme est plus grave chez les homozygotes.

C'est une mutation du gène FGFR3 qui code pour **le récepteur d'un facteur de croissance fibroblastique**.

Elle apparaît au niveau du **codon 380 exon 10 nucléotide 1138**.

Si **G > A** alors on utilisera l'endonucléase **Bfml** ;

Si **G > C** alors on utilisera l'endonucléase **HpaII**.

➔ Dans les 2 cas, on retrouve **Gly > Arg** = c'est une mutation *ponctuelle faux sens*. L'utilisation d'endonucléases est une méthode **indirecte**. On vérifie ensuite avec un séquençage (méthode directe).