

## 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.

**On cherche à montrer comment l'utilisation des enzymes de restriction permet de distinguer des allèles d'un même gène.**

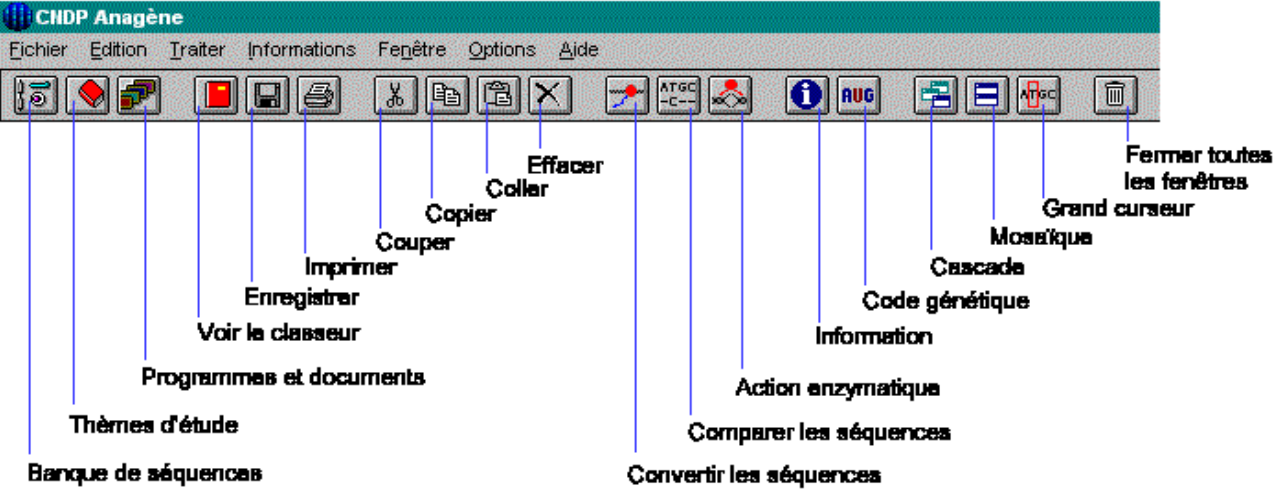



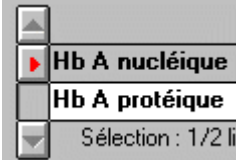
### Matériel :

- logiciel ANAGENE,
- fiche technique d'ANAGENE,
- séquences alléliques du gène codant pour la rhodopsine (pigment rétinien), disponibles en fichier ANAGENE « RHODO.EDI »,
- fichier d'enzymes de restriction « ENZRHO.ZYM ».

Activités et déroulement des activités	Capacités	Barème
1- Précisez en quelques lignes le principe de dépistage d'une mutation à l'aide d'une enzyme de restriction.	<b>Comprendre la manipulation</b>	2
2- <b>Charger</b> avec ANAGENE, à partir du répertoire « Sauve », le fichier RHODO.EDI puis <b>utiliser</b> les fonctionnalités du logiciel pour <b>comparer</b> l'allèle fonctionnel de la rhodopsine (rhonorm) aux autres allèles. <b>Noter</b> précisément la ou les différences et leurs emplacements.	<b>Utiliser un logiciel de traitement de données</b>	6
3- <b>Traiter</b> les allèles du gène par l'action des enzymes de restriction disponibles dans le fichier « ENZRHO.ZYM » pour obtenir la carte des sites <b>et</b> le tableau de comparaison. <b>Appeler l'examineur pour vérification</b>		
4- <b>Déterminer</b> la ou les enzymes qui permettent de distinguer l'allèle fonctionnel et un allèle de votre choix et <b>justifier</b> votre choix d'enzyme(s).	<b>Appliquer une démarche explicative</b>	2
5- <b>Schématiser</b> les cartes de restriction obtenues pour l'allèle fonctionnel et l'allèle choisi avec les sites d'action d'une des enzymes sélectionnées. <b>Compléter</b> ce schéma en reportant les sites d'action de l'enzyme sur les deux allèles. <b>Appeler l'examineur pour vérification</b>	<b>Traduire des informations par un schéma</b>	4
6- En utilisant les cartes de restriction, <b>vérifier</b> sur une comparaison simple des deux allèles précédents la différence de séquence qui permet de les identifier. <b>Appeler l'examineur pour vérification</b>	<b>Utiliser un logiciel de traitement de données</b>	3
7- <b>Rédiger</b> une conclusion pour répondre au problème formulé en introduction.	<b>Adopter une démarche explicative</b>	2
8- En fin d'épreuve, <b>fermer</b> le logiciel.	<b>Gérer et organiser le poste de travail</b>	1

## UTILISATION DES ENZYMES DE RESTRICTION ET POLYMORPHISME GENIQUE

## Fiche technique d'ANAGENE

Les icônes de la barre d'outils		Numérotation des éléments d'une séquence	
		 Echelle de repérage des nucléotides  Attention au décalage des numéros	
		<p>On passe de l'échelle numérotant les nucléotides à celle des acides aminés en cliquant sur l'échelle</p>	
		<p><b>Bulles d'aide</b></p> <p>Pour vous aider, une <b>bulle d'aide</b> s'affiche sur l'objet pointé par le curseur de la souris</p>	
Sélectionner une séquence		Traiter par action enzymatique 	
	<p>Cliquer sur le <b>bouton de sélection</b>. La séquence sélectionnée s'inscrit sur fond blanc. On peut <b>sélectionner</b> plusieurs séquences. La <b>flèche rouge</b> 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 <b>flèches grises</b> 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 <b>Traiter / Action enzymatique</b> puis sélectionner les enzymes dans la banque ou par <b>Fichier</b>.</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><b>Attention</b> : les fenêtres ouvertes sont parfois masquées car empilées les unes sur les autres. Utiliser le menu Fenêtre/Mosaïque.</p>	
<p>La <b>séquence référence</b> est toujours celle qui est placée en premier :</p> <p>-une <b>comparaison par alignement</b> qui permet de comparer avec discontinuités, en éliminant les décalages résultant de délétion(s) ou d'insertion(s)</p> <p>-une <b>comparaison simple</b>, point par point des séquences sans aucun alignement.</p>			