

LE GENOTYPAGE ALU : PRINCIPE

Données - Les séquences d'ADN "Alu" font partie des éléments répétés les plus abondants dans le génome humain. Les éléments Alu sont une famille d'éléments courts intercalés (SINE) qui se sont intégrées dans les génomes de primates par rétrotransposition au cours des 65 derniers millions d'années et qui contribuent à l'évolution des génomes. En effet, les séquences Alu continuent de se disperser à raison d'une insertion toute les 200 naissances! L'insertion Alu PV92, située sur le chromosome 16, est spécifique à l'homme. Si un individu possède l'insertion Alu sur un de ses chromosomes 16, alors la séquence d'ADN sera plus longue de taille 860 pb et pourra être mise en évidence par électrophorèse d'ADN sur gel car en absence d'insertion sa taille est de 4 pb

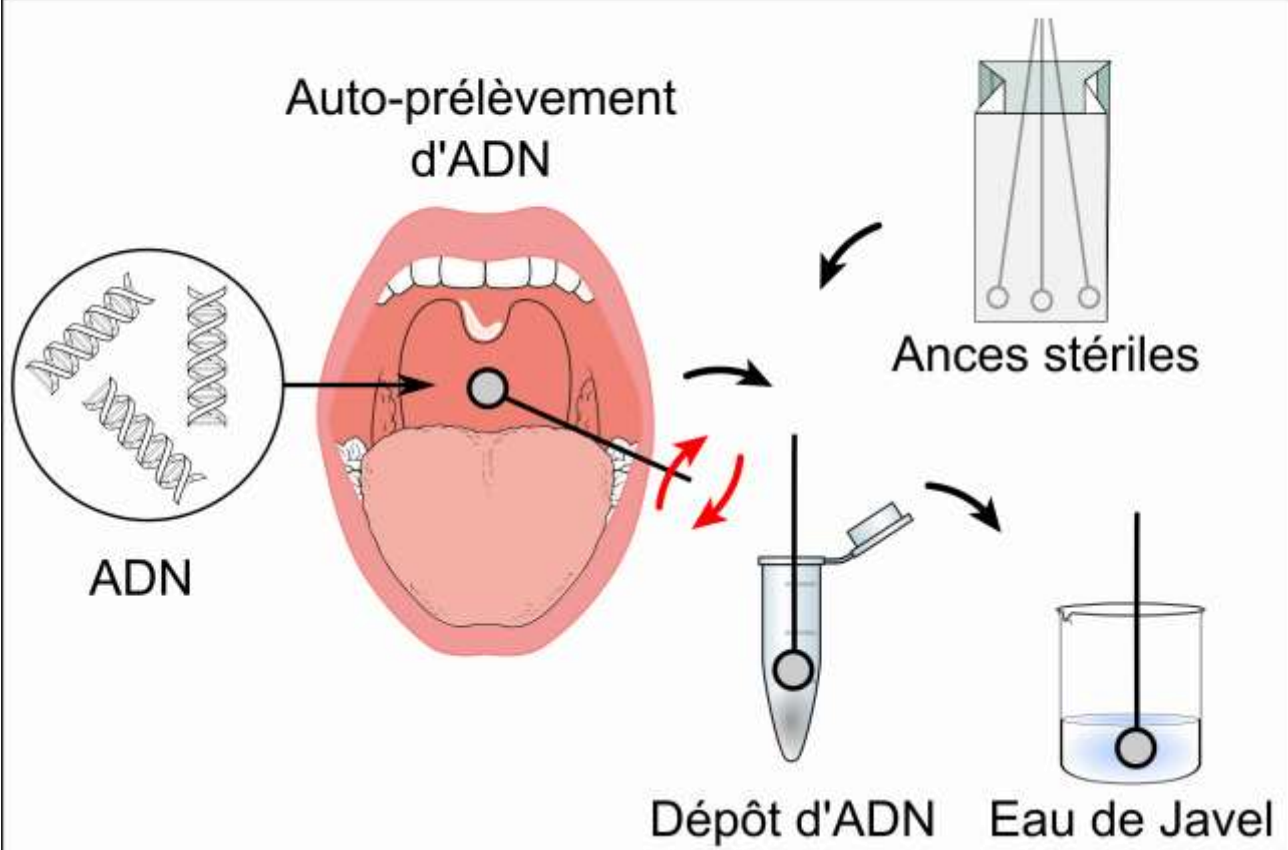
Objectif - Après prélèvement d'ADN, PCR et électrophorèse, déterminer à partir du gel, déterminez si l'élève possède l'insertion Alu dans son génotype.

Résultats - Analyse du gel d'ADN

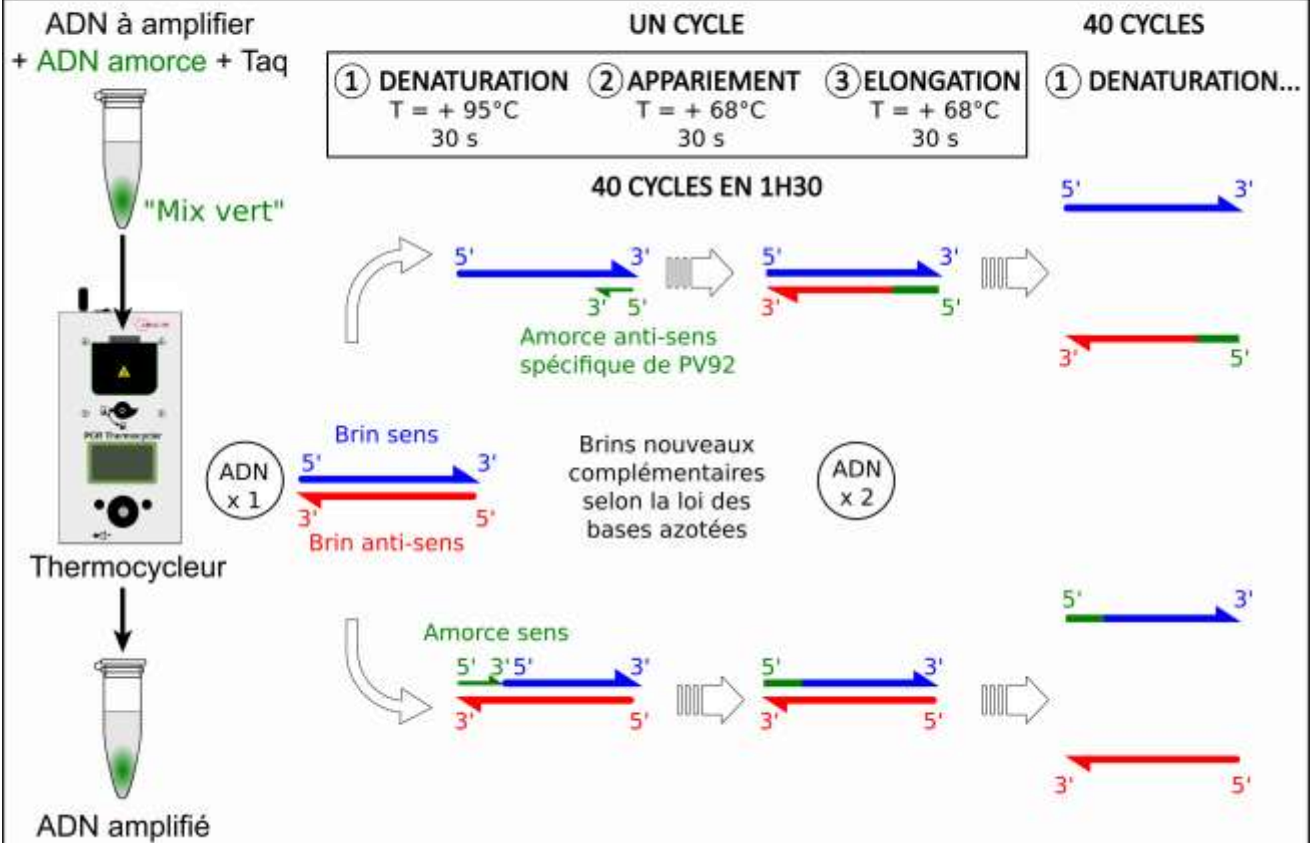
La PCR amplifie un segment de 500 pb si l'insertion n'est pas présente

- Pas insertion : deux fragments de 500 pb : (500//500) > Génotype : (-//-)
- Deux insertion : deux fragments de 860 pb : (860//860) > Génotype : (+//+)
- Insertion et pas insertion : (860//500) > Génotype : (+//-)

1 - AUTOPRELEVEMENT D'ADN

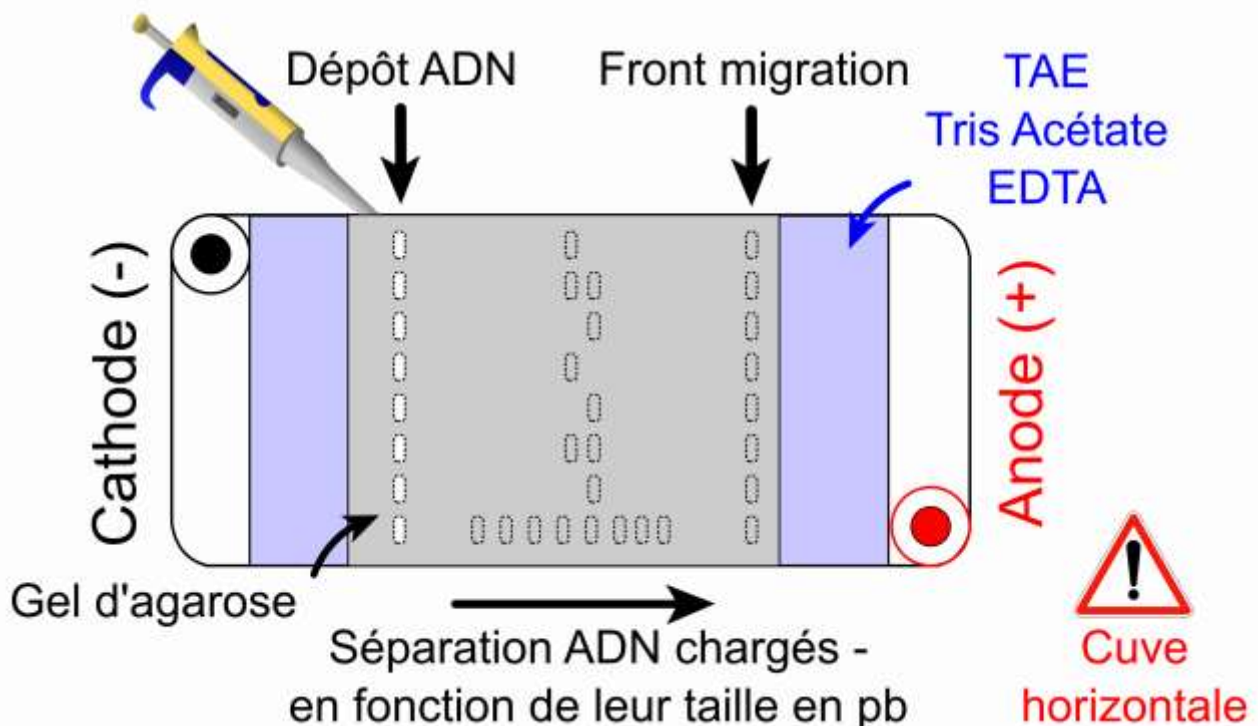


2 - P.C.R. : AMPLIFICATION ADN



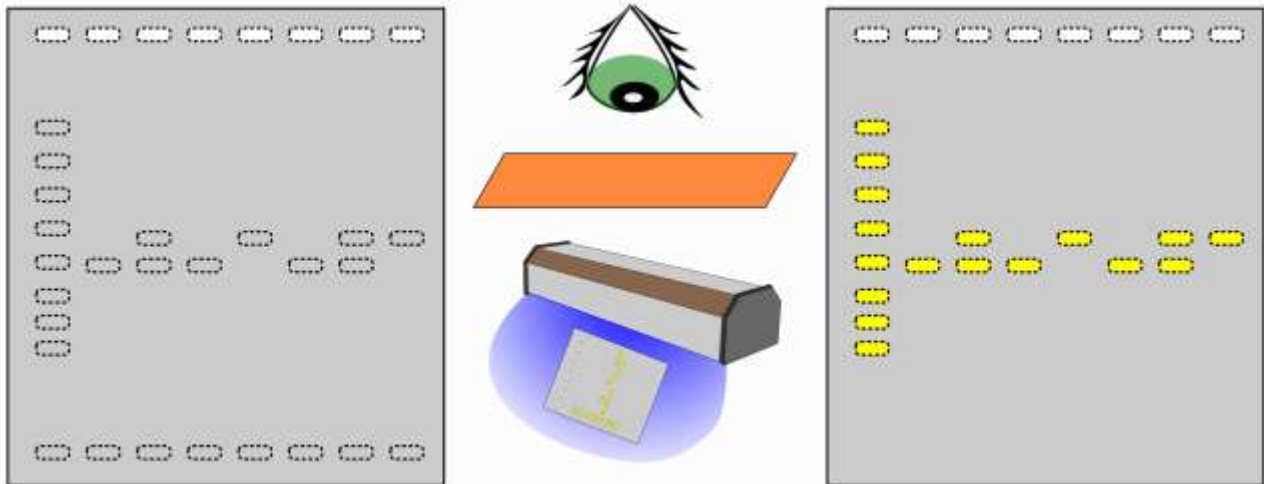
3 - ELECTROPHORESE D'ADN

- Migration : 35 min à 125 V
- Arrêter quand front de migration au 2/3 du gel



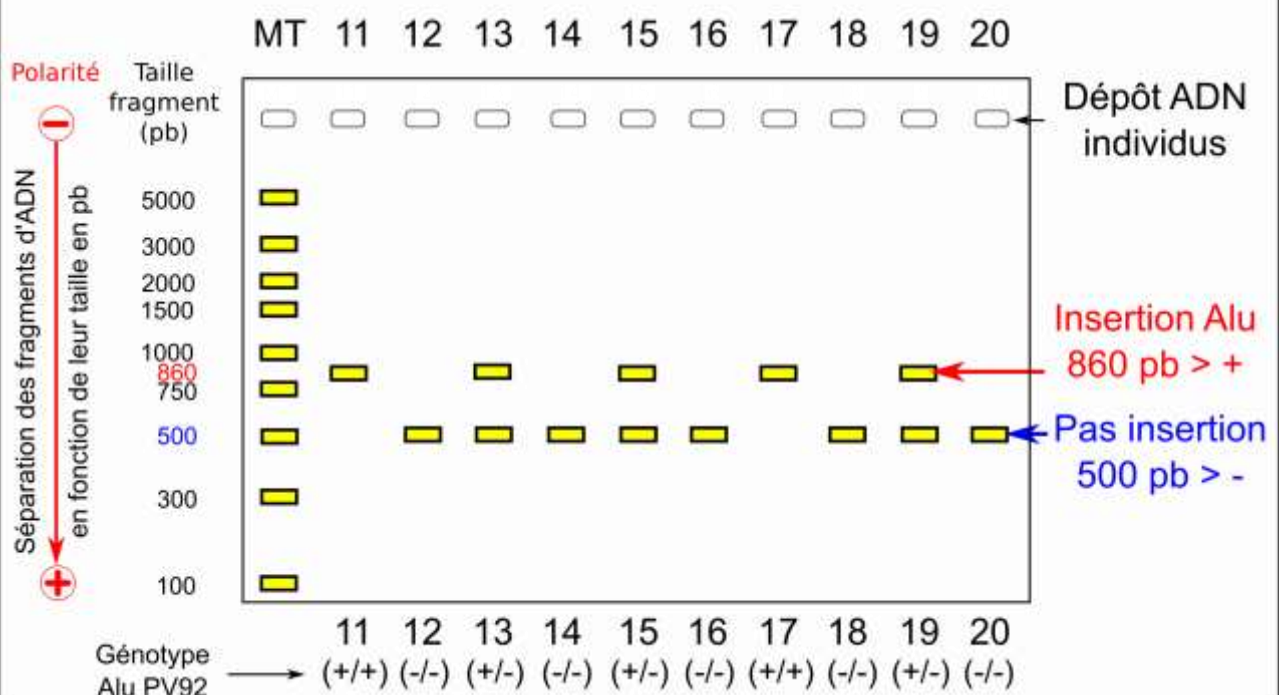
4 - LECTURE GEL SOUS LUMIERE BLEUE

- Migration : 45 min à 140 V
- Arrêter quand front de migration au 2/3 du gel
- Lire le gel sous une lumière bleue et un filtre orange
- Prendre une photo rapidement car le gel se garde 24 h puis les couleurs s'estompent vite



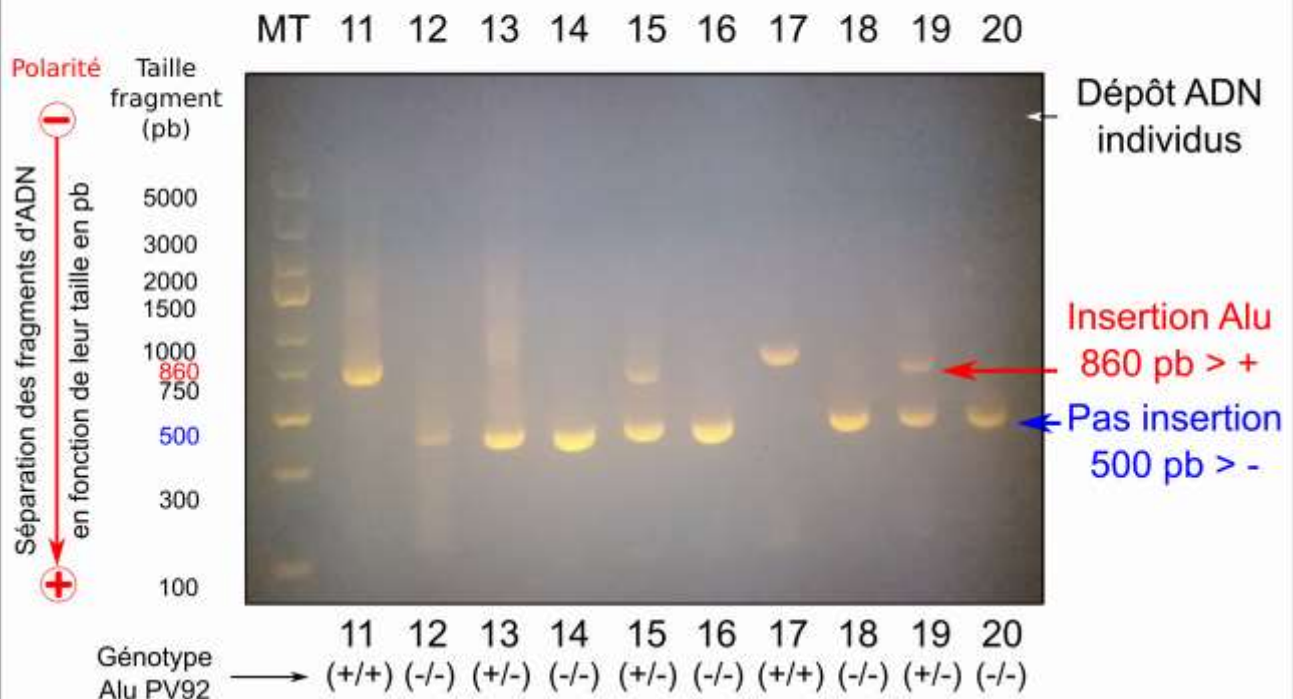
5 - ANALYSE ET INTERPRETATION

Interprétation de l'électrophorèse d'ADN
des individus 11 à 20 et génotypes Alu - PV92



5 - ANALYSE ET INTERPRETATION

Interprétation de l'électrophorèse d'ADN des individus 11 à 20 et génotypes Alu - PV92



6 - DISTRIBUTION GENOTYPES ALU

Echantillon 48		Résultats observés		Résultats théoriques	
Génotypes Alu-PV92	(+//+)	5	10,42%	3,52%	2
	(+//-)	8	16,67%	30,47%	15
	(-//-)	35	72,92%	66,02%	32

$$f("+") = 0,19 \text{ et } f("-") = 0,81$$

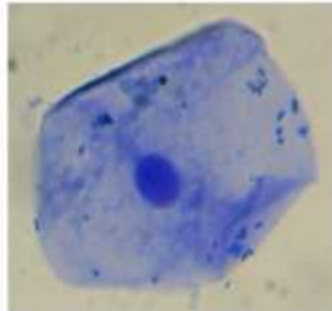
Chi² observé = 9,8 pour Chi² théorique de 5,9 avec une probabilité d'acceptation des erreurs de 0,05.

> L'échantillon d'élèves a donc 0,72% de chances de provenir d'une population à l'équilibre de Hardy-Weinberg
> Comme cette valeur est inférieure à 5%, on en conclut, avec moins de 5% de chance de se tromper que la population ne suit pas l'équilibre de Hardy Weinberg.

AUTOPRELEVEMENT D'ADN



Anses stériles



Cellules épithéliales
buccales (MOx600)



Microtube
ADN+Mix vert

MATERIEL DE PRELEVEMENT ET PCR

Centrifugeuse Vortex Thermocycleur



Microtubes
PCR

Gants

Anses stériles
contenant l'ADN



Micropipettes et cônes stériles

GENOTYPAGE ALU - INDIVIDUS 1-10



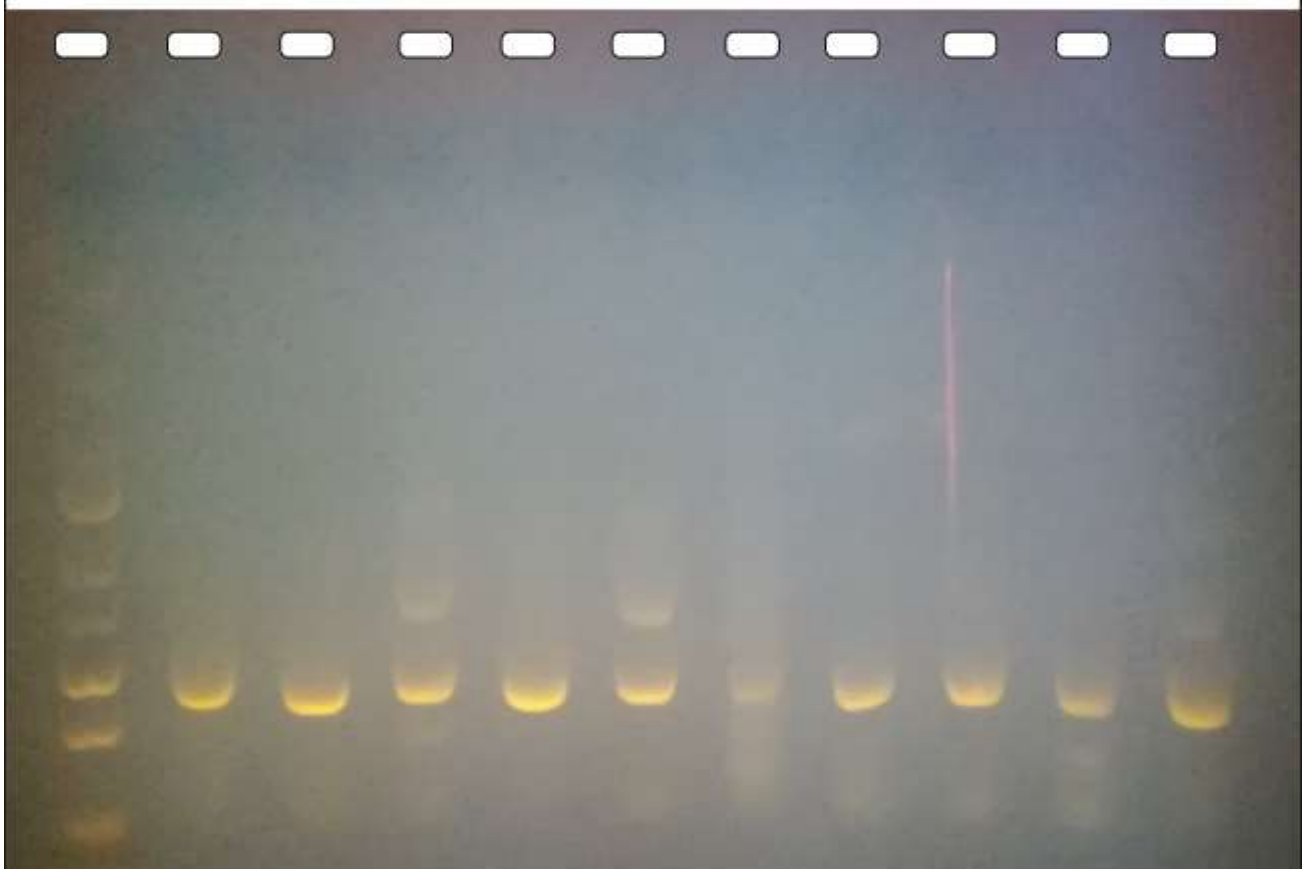
GENOTYPAGE ALU - INDIVIDUS 11-20



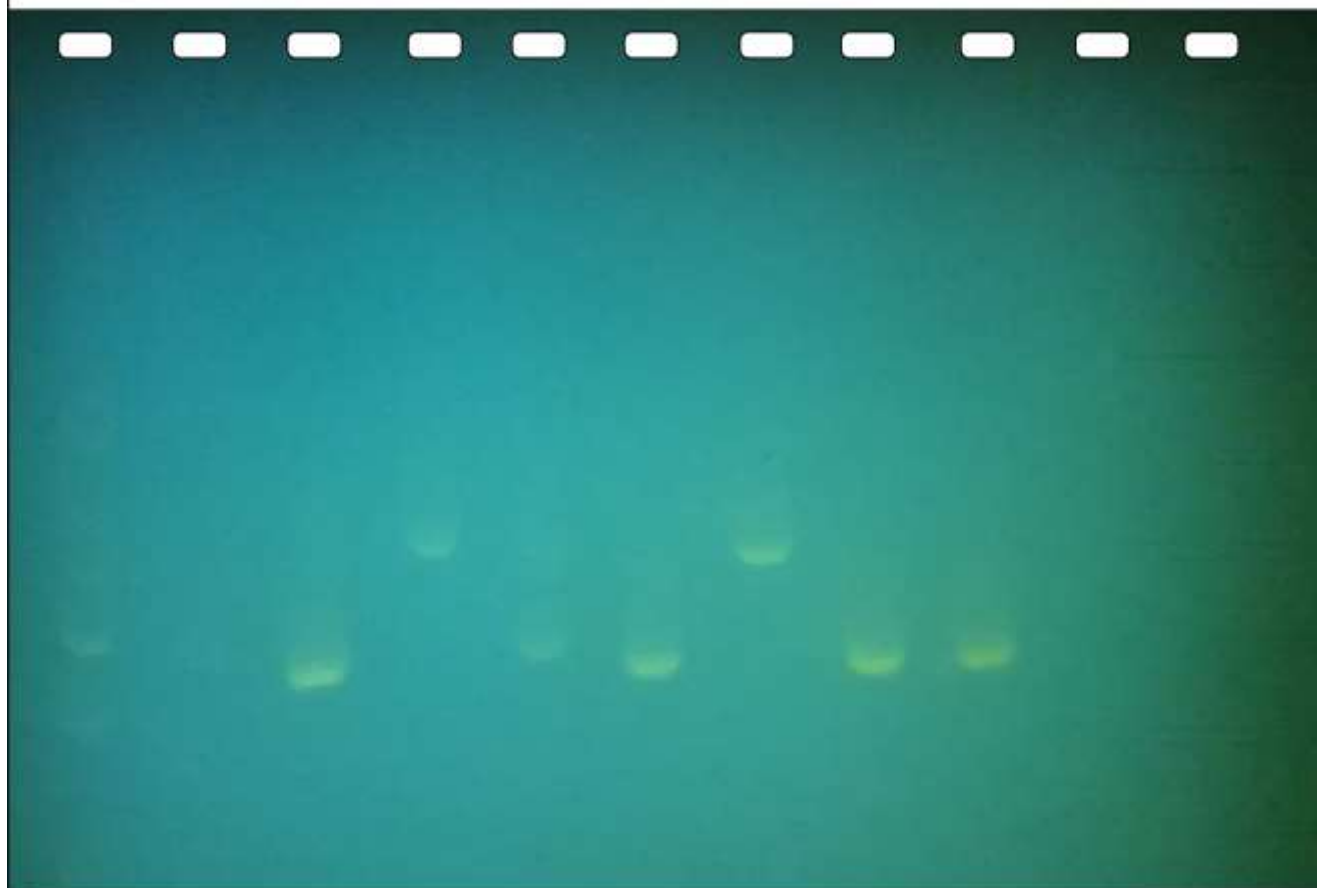
GENOTYPAGE ALU - INDIVIDUS 21-30



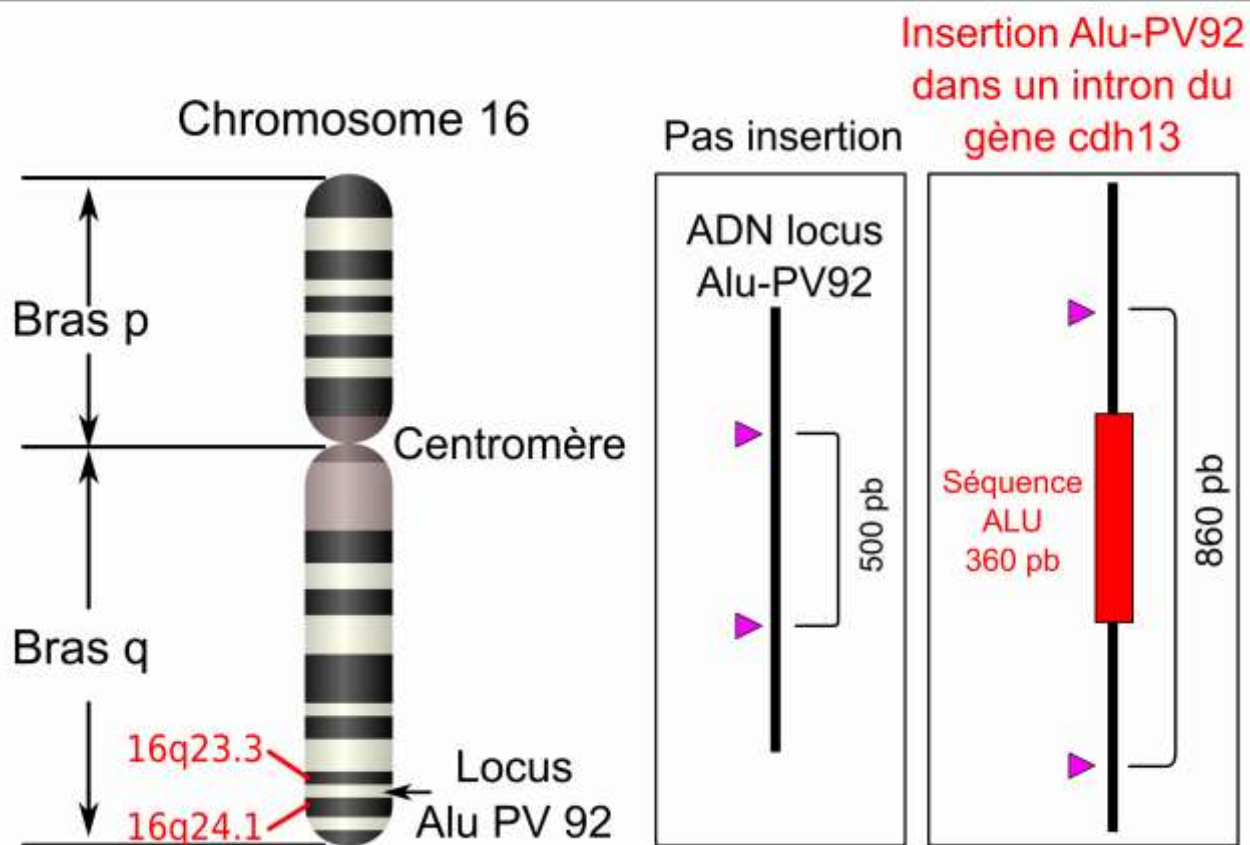
GENOTYPAGE ALU - INDIVIDUS 31-40



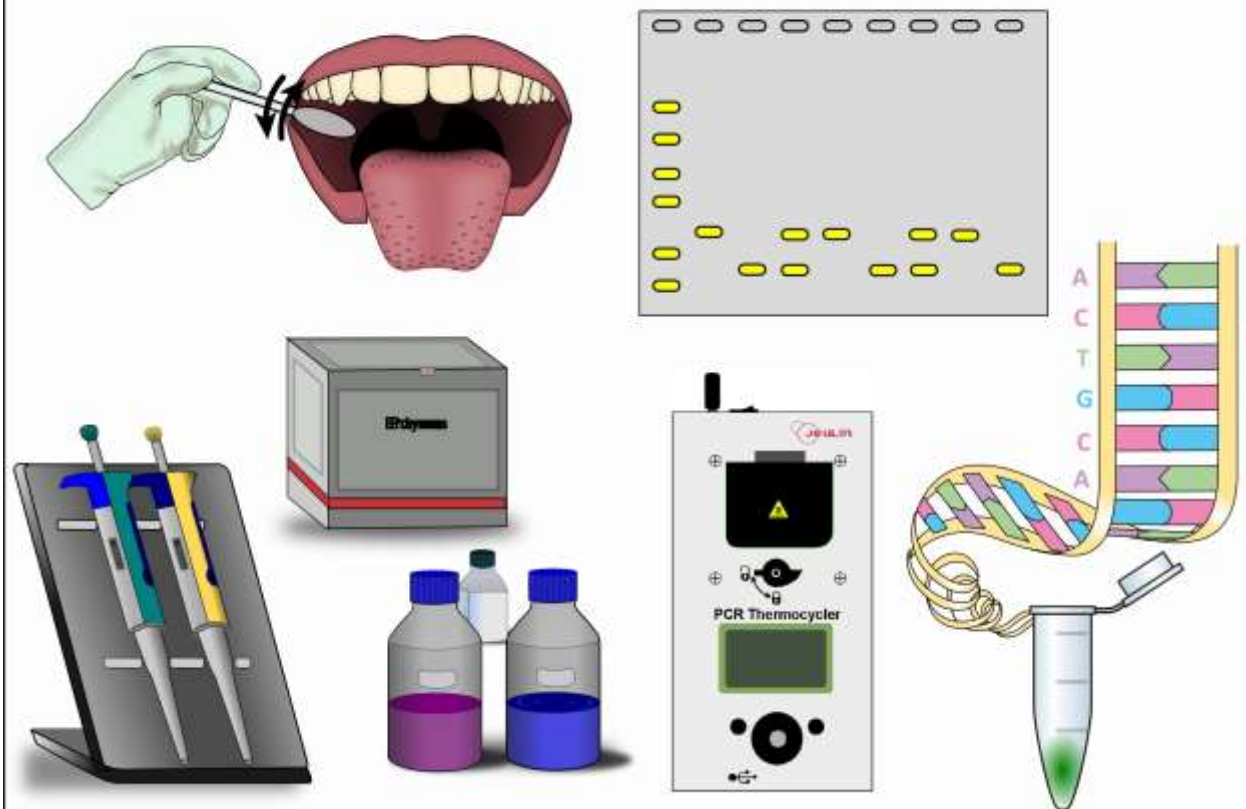
GENOTYPAGE ALU - INDIVIDUS 41-48



LOCALISATION CHROMOSOMIQUE ALU



MATERIEL GENOTYPAGE ALU - PV 92



PRINCIPE DE LA P.C.R.

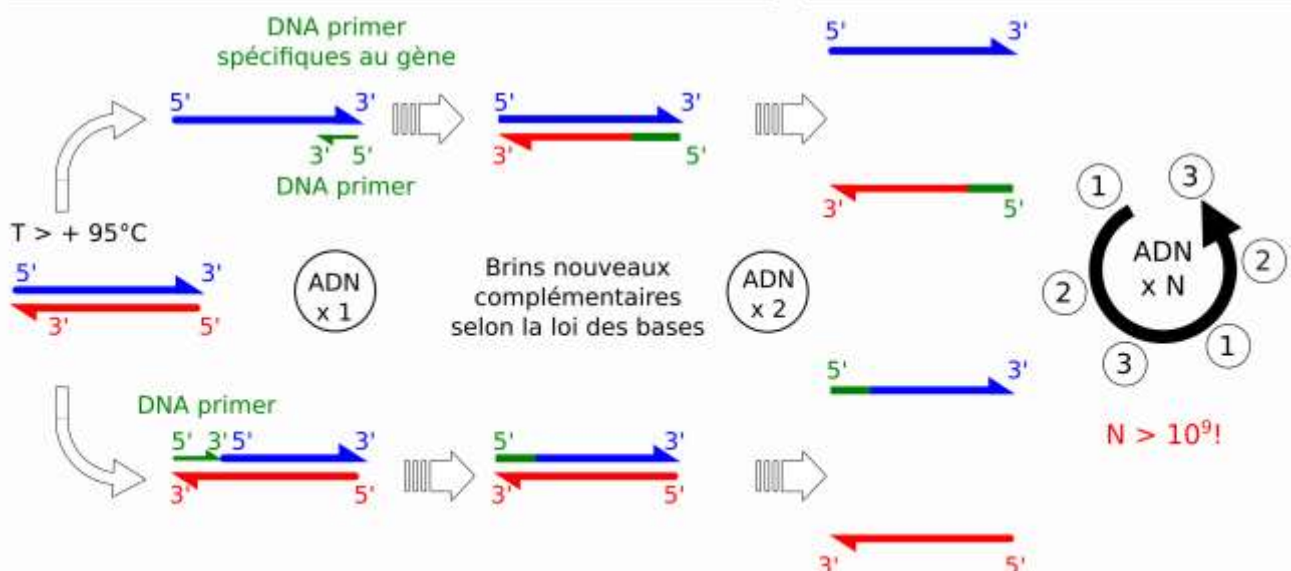
Amplifier un fragment d'ADN par duplication conforme et en obtenir des milliards de copies identiques en 1h30!

UN CYCLE

... N CYCLES

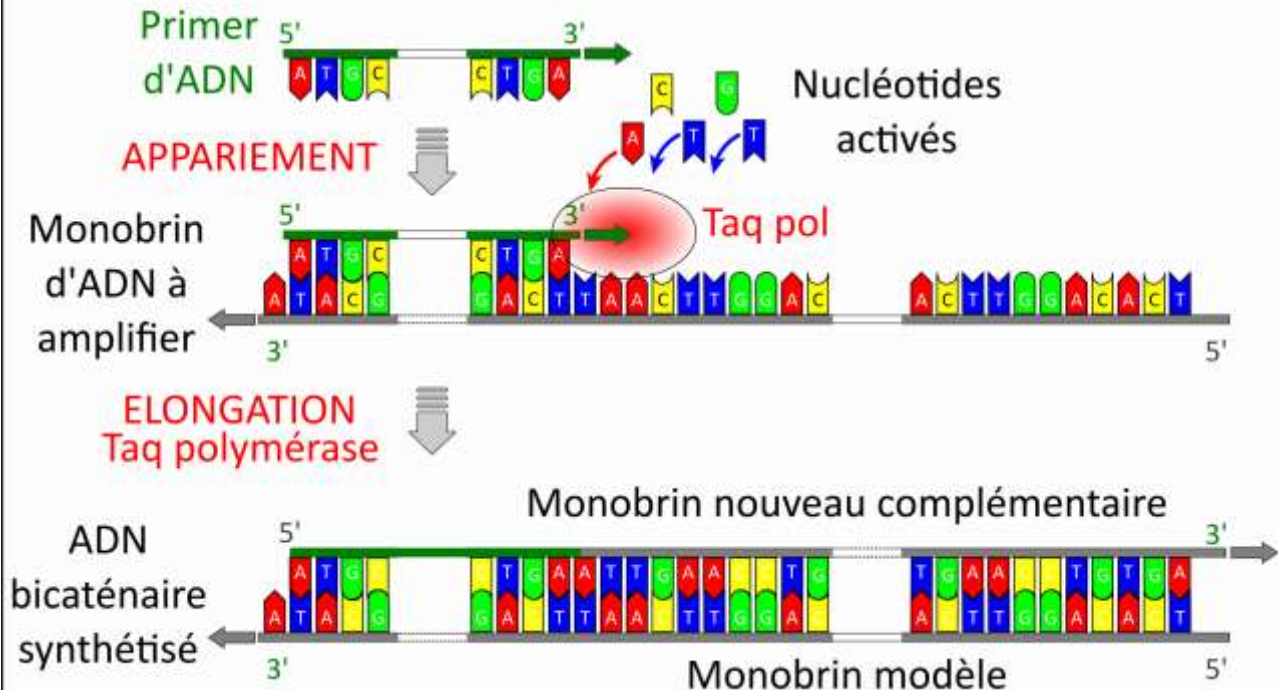
① DENATURATION ② APPARIEMENT ③ ELONGATION

① DENATURATION



PRINCIPE DE LA P.C.R.

Amplifier un fragment d'ADN par duplication conforme et en obtenir des milliards de copies identiques en 1h30!



3 TYPES DE GENOTYPES "ALU PV92"

