

Dépistage à l'aide d'enzymes de restriction.

Principe

Rappel du cours : Les enzymes de restriction coupent les séquences d'ADN en des *sites* composés de quelques bases et qui leur sont spécifiques et que l'on nomme *sites de restriction*.

Maladie génétique à dépister : 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 (voir le fichier pdb1ln6.pdb). La plupart de ces mutations conduisent à un allèle muté dominant. On cherche à trouver des enzymes de restriction permettant le dépistage des différents allèles responsables de la maladie. La mutation peut faire apparaître ou disparaître un site de restriction pour une enzyme de restriction donnée. L'électrophorèse finale donne des résultats différents entre l'allèle muté et l'allèle « normal ». Il s'agit donc de trouver la bonne enzyme de restriction qui produira un effet différent selon que le sujet est porteur de telle ou telle mutation.

Manipulation à réaliser

Charger avec ANAGENE, le fichier RHODO.EDI puis repérez toutes les différences entre l'allèle fonctionnel de la rhodopsine (rhonorm) et les allèles mutés. "Traiter" ensuite virtuellement les allèles du gène par l'action des enzymes de restriction de ENZRHO.ZYM pour obtenir la carte des sites de restriction et le tableau de comparaison (choisir l'affichage mosaïque).

Choisir une enzyme qui permette de distinguer l'allèle fonctionnel (rhonorm) d'un des allèles mutés.

Schématiser les cartes de restriction obtenues pour l'allèle fonctionnel et l'allèle choisi avec tous les détails nécessaire à une compréhension correcte.

Fiche technique simplifiée :

Traiter par action enzymatique : Sélectionner les séquences d'ADN ; Traiter / Action enzymatique puis sélectionner les enzymes dans la banque ou par Fichier. Choisir le type de représentation : graphique pour obtenir la carte des sites de restriction et/ou tableau du nombre de sites.

Mode d'affichage de la carte de restriction : Les sites de restriction s'affichent en rouge. 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. Attention : les fenêtres ouvertes sont parfois masquées car empilées les unes sur les autres. Utiliser le menu Fenêtre/Mosaïque.

Représenter graphiquement des sites de restriction : La représentation graphique affiche la carte de restriction. La représentation tableau affiche le nombre de sites de restriction pour plusieurs enzymes. La première s'affiche en général en masquant la seconde : décaler la fenêtre pour voir les deux.

Éléments de solution :

- rhodonorm et la mutation 3 diffèrent pour les nucléotides 404 et 405 ; la mutation 5 est une délétion de 12 bases.

Pour mettre en évidence la mutation 3, il faut utiliser Alu 1

Pour mettre en évidence la mutation 5, il faut utiliser Mnl 1

Pour mettre en évidence la mutation 3, il faut utiliser Hha 1