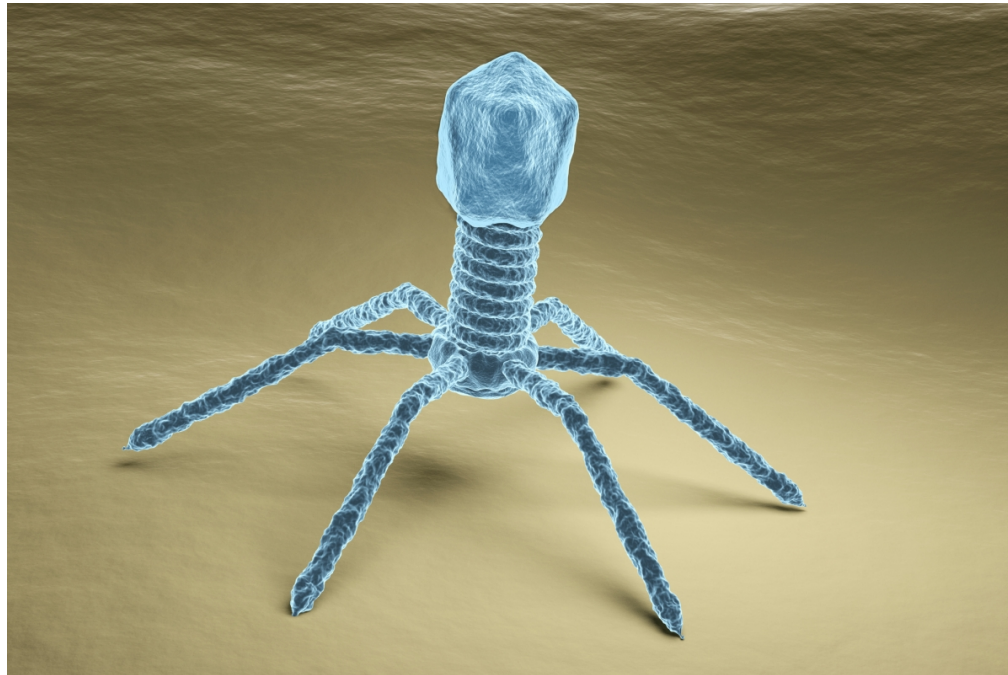


SVF – Génomique structurale et fonctionnelle

TP – étude expérimentale de l'ADN viral du bactériophage λ



Source : <https://www.mcgill.ca>

1. La technique de RFLP

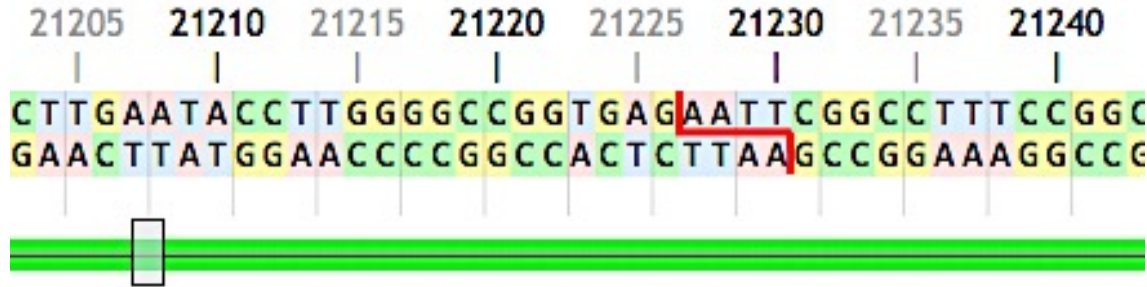
Restriction Fragment Length Polymorphism

Les enzymes de restriction

Outils des bactéries comme mode de défense contre les virus

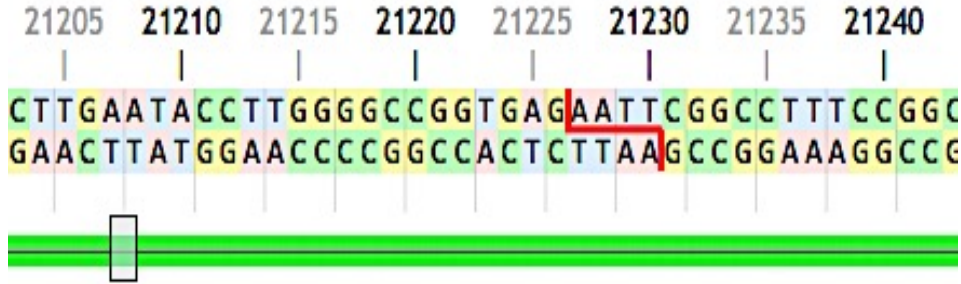
Site de coupure pour l'enzyme de restriction :	
EcoRI	HindIII
$ \begin{array}{c} \downarrow \\ 5'-G-A-A-T-T-C-3' \\ 3'-C-T-T-A-A-G-5' \\ \uparrow \end{array} $	$ \begin{array}{c} \downarrow \\ 5'-A-A-G-C-T-T-3' \\ 3'-T-T-C-G-A-A-5' \\ \uparrow \end{array} $

Utilisation de Genieen2



Site EcoRI visible sous Genieen2

Utilisation de Geniegen2



EcoRI coupe l'ADN 5 fois

21226

26104

31747

39168

44972

HindIII coupe l'ADN 7 fois

23130

25157

27479

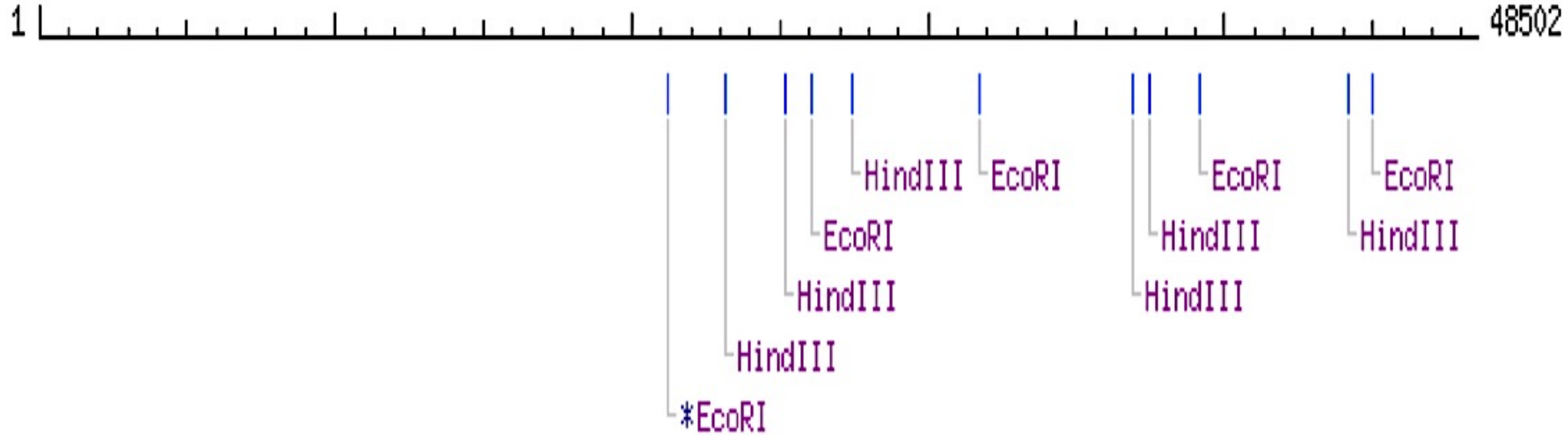
36895

37459

37584

44141

Carte de restriction du phage λ



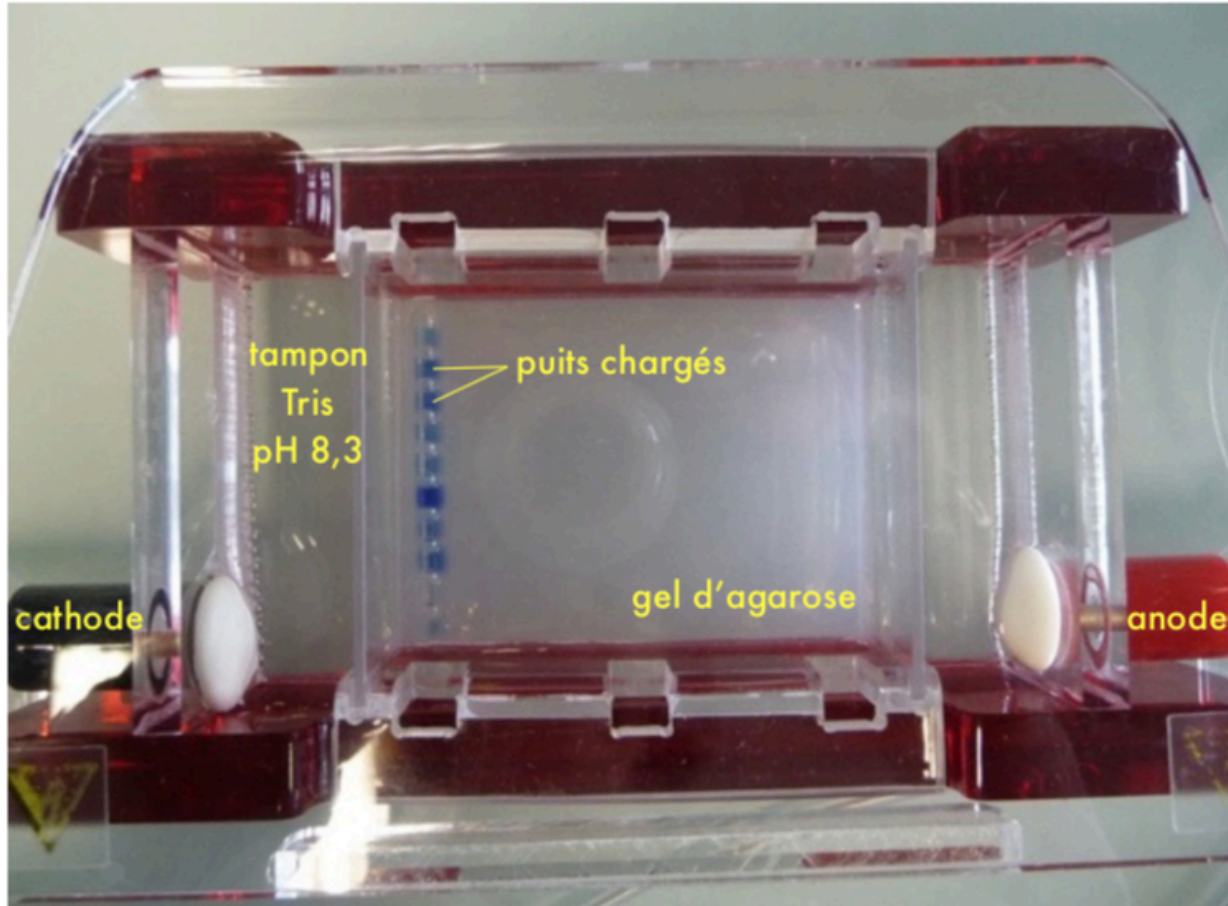
On attend donc

- 6 fragments après coupure avec EcoRI
- 8 fragments après coupure avec HindIII
- 13 fragments après une double coupure

2. Électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

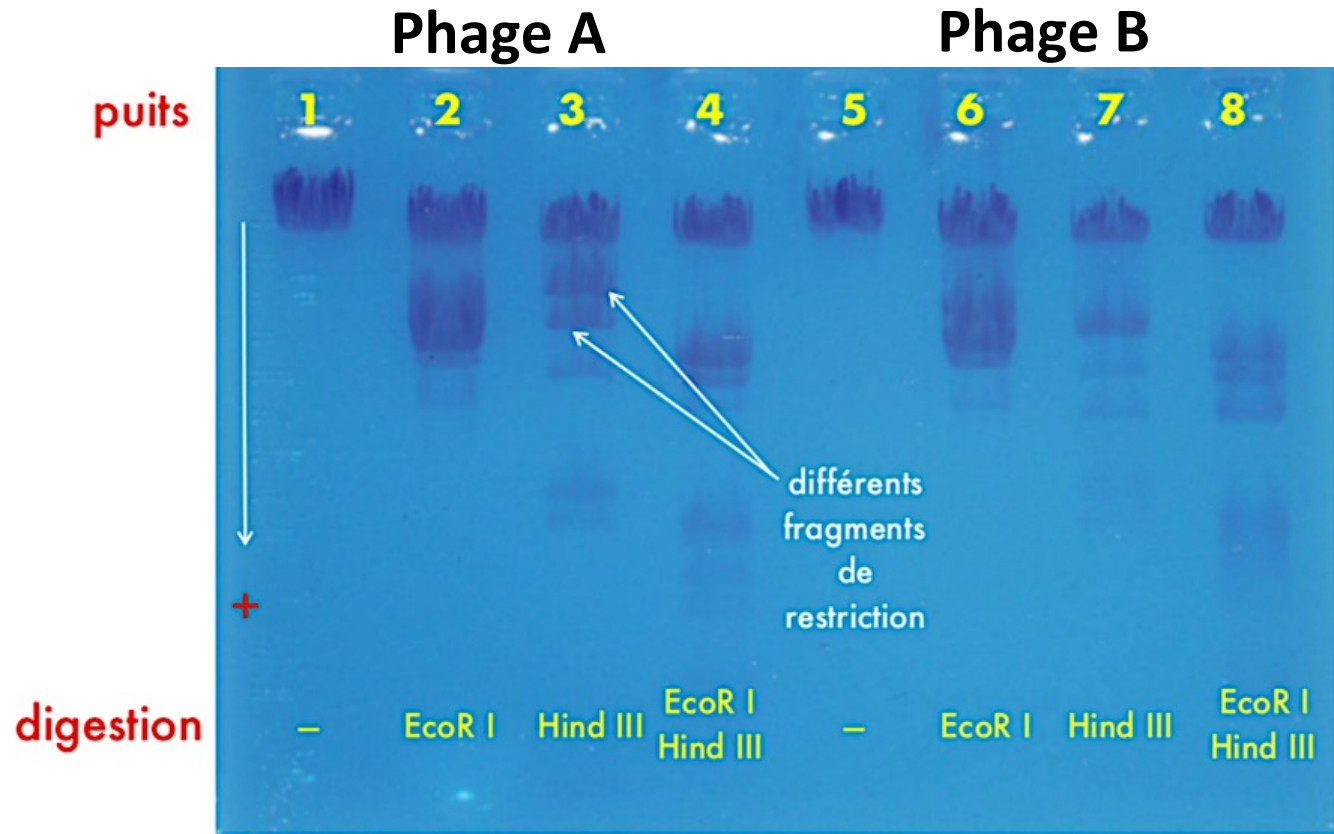
Le montage

Pôle -

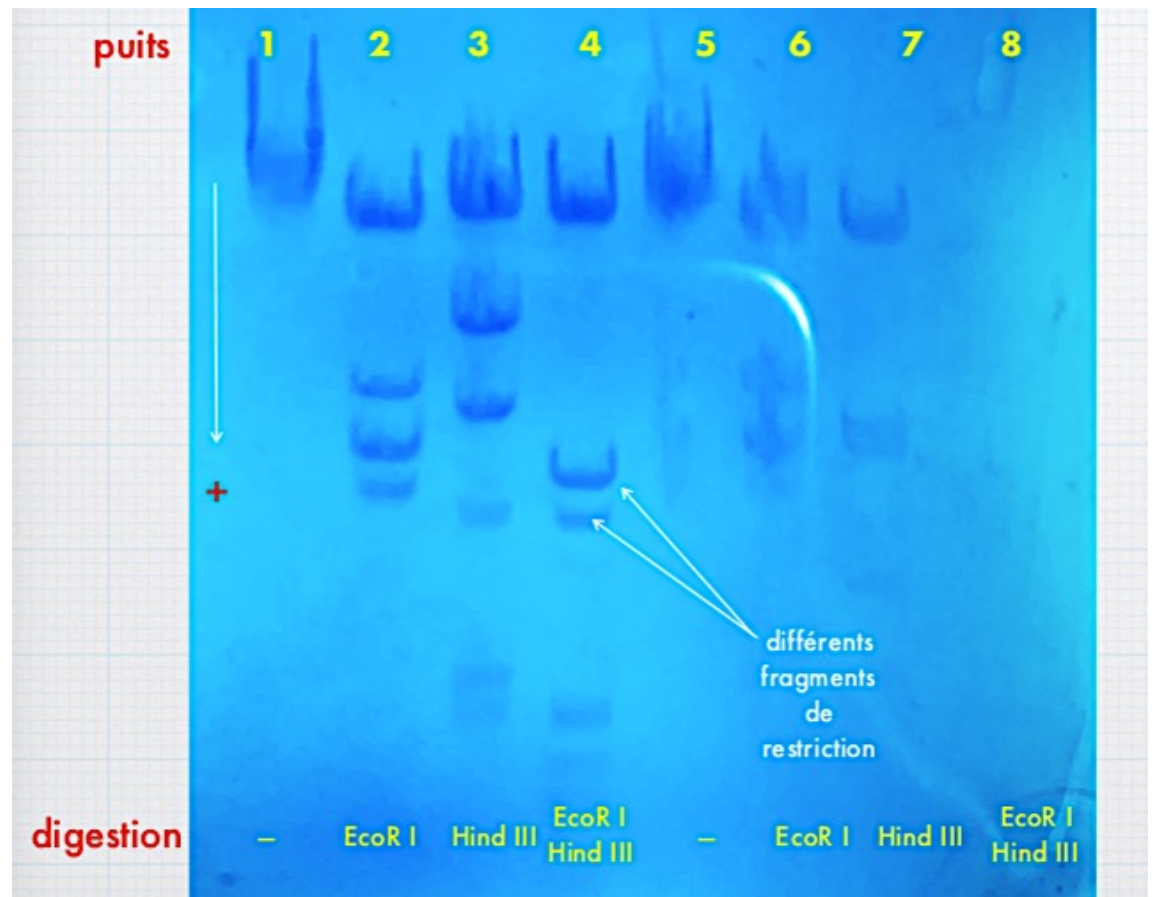


Pôle +

Le gel obtenu



Gel obtenu par les étudiants en 2021



3. Analyse des gels et intérêts de la méthode

Les résultats obtenus sur le gel

Type de phage	Fragments EcoRI	Fragments HindIII	Fragments EcoRI + HindIII
Phage A	6 fragments de taille 21226 ; 7421 ; 5804 ; 5643 ; 4878 ; 3530	8 fragments de taille : 23130 ; 9416 ; 6557 ; 4361 ; 2322 ; 2027 ; (564 ; 125 non visibles sur le gel)	13 fragments de taille : 21226 ; 5148 ; 4973 ; 4268 ; 3530 ; 2027 ; 1904 ; 1584 ; (1375 ; 947 ; 831 ; 564 ; 125 non visibles sur le gel)
Phage B	6 fragments de taille 21226 ; 7421 ; 5804 ; 5643 ; 4878 ; 3530	9 fragments de taille : 23130 ; 6019 ; 6557 ; 4361 ; 3397 ; 2322 ; 2027 ; (564 ; 125 : non visibles sur le gel)	14 fragments de taille : 21226 ; 4973 ; 4268 ; 3530 ; 3397 ; 2027 ; 1904 ; 1751 ; 1584 ; (1375 ; 947 ; 831 ; 564 ; 125 : fragments invisibles sur le gel)

Le phage A montre des résultats conformes à la prédiction : il s'agit du phage sauvage.

Le phage B présente 1 bande supplémentaire dans la piste HindIII : cela signifie qu'une mutation est apparue et qu'elle a fait apparaître un nouveau site de restriction.

Recherche de la position de la mutation

Phage sauvage : fragments HindIII

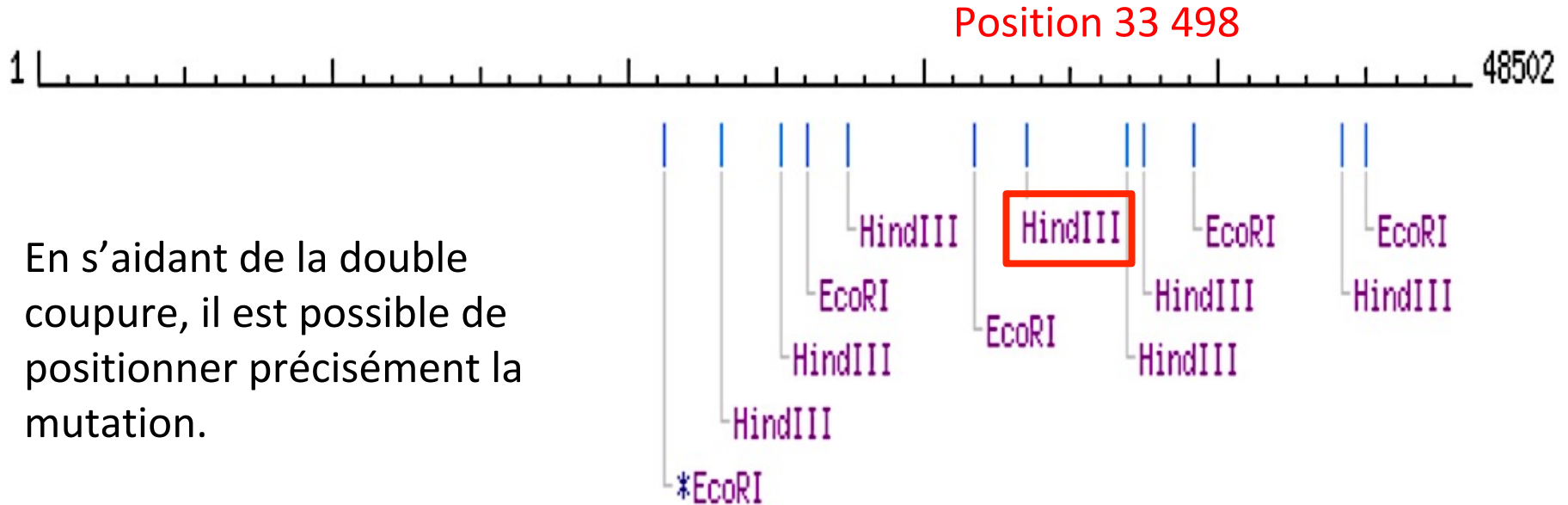
8 fragments de taille : 23130 ; 9416 ; 6557 ; 4361 ; 2322 ; 2027 ;
(564 ; 125 non visibles sur le gel)

Phage muté : fragments HindIII

9 fragments de taille : 23130 ; **6019** ; 6557 ; 4361 ; **3397** ; 2322 ;
2027 ; (564 ; 125 : non visibles sur le gel)

La mutation est placée dans le fragments de 9416 pb : elle le scinde
en 2 séquences de 6019 et 3397 pb.

Recherche de la position de la mutation

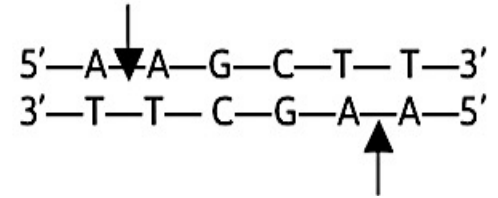


Identification de la mutation

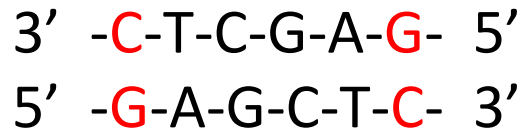
Geniegen2 donne la séquence sauvage aux alentours de la position 33 498



Il n'y a pas le site à HindIII

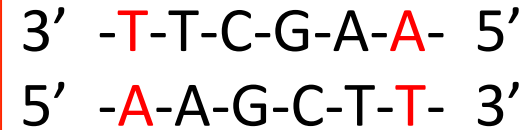


équivalent à



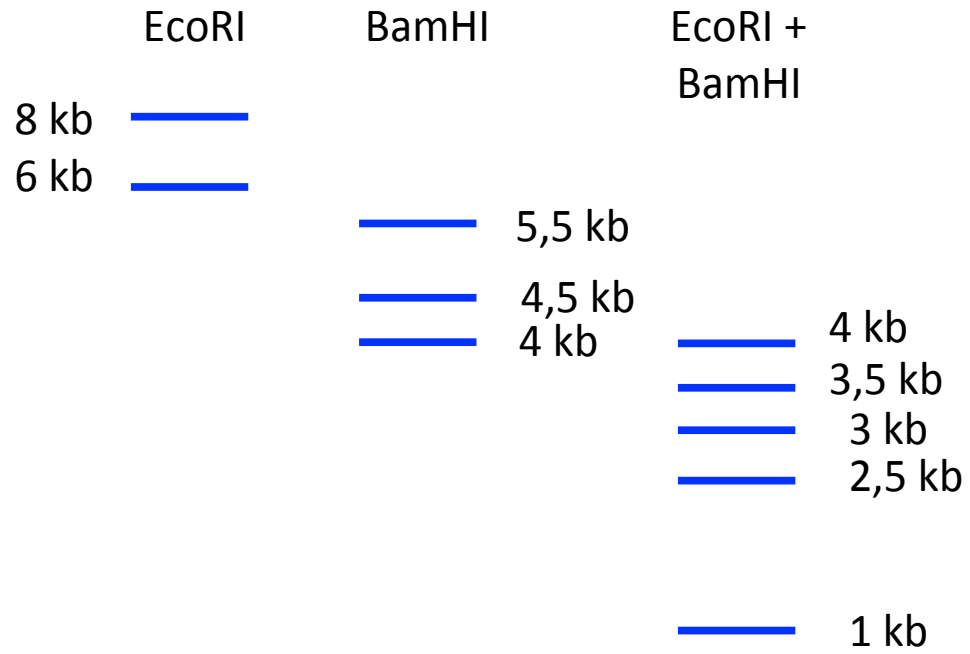
Séquence sauvage

mutation

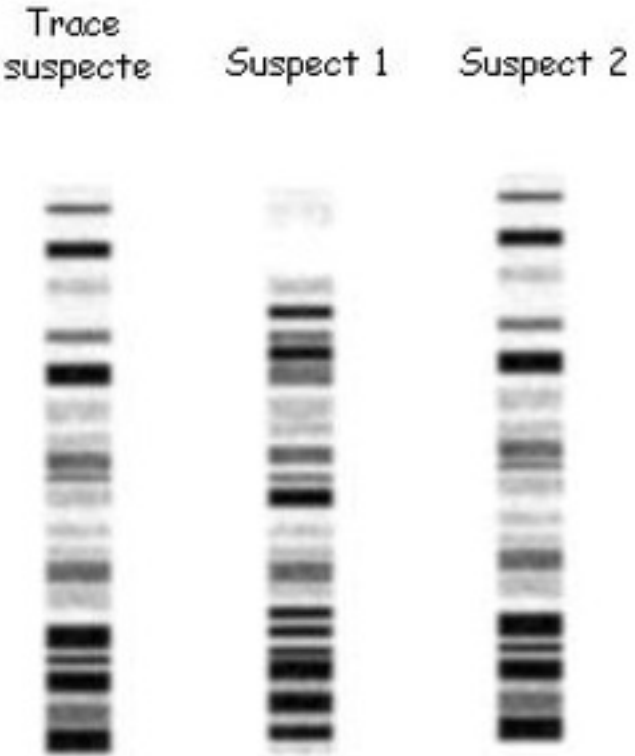


Séquence mutée

Carte de restriction simple



Utilisation dans la police scientifique



RFLP et recherche des criminels

Résultats d'une comparaison ADN