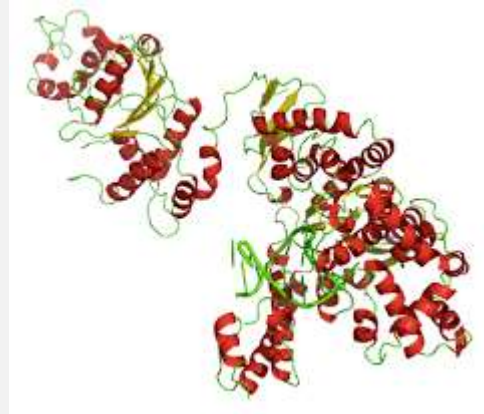
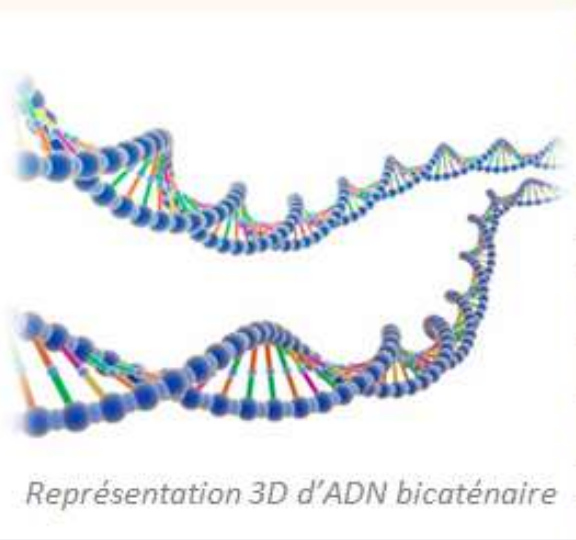
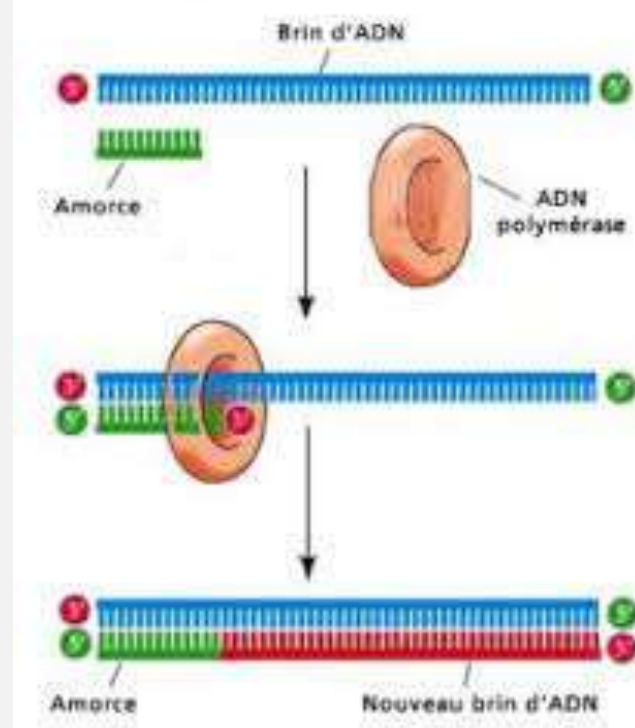




# La PCR



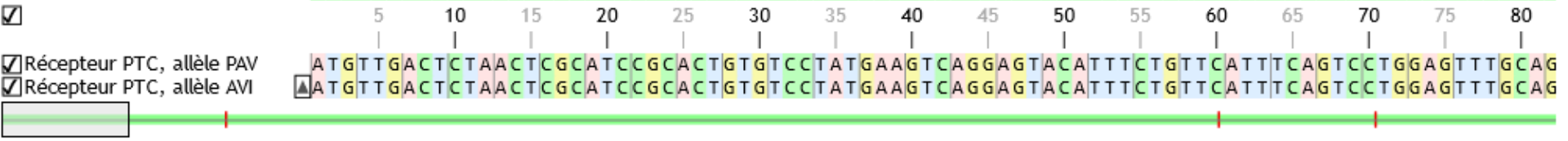
Taq polymérase



n cycles	94 °C pendant 7 minutes		Dénaturation de l'ADN génomique
	94 °C pendant 30 secondes		Séparation des brins à amplifier
	60 °C pendant 30 secondes		Mise en place des amorces
	72 °C pendant 1 minute 30 secondes		Élongation à partir des amorces
	4 °C pour arrêt		Conservation de l'ADN amplifié
	- 20 °C pendant des années		

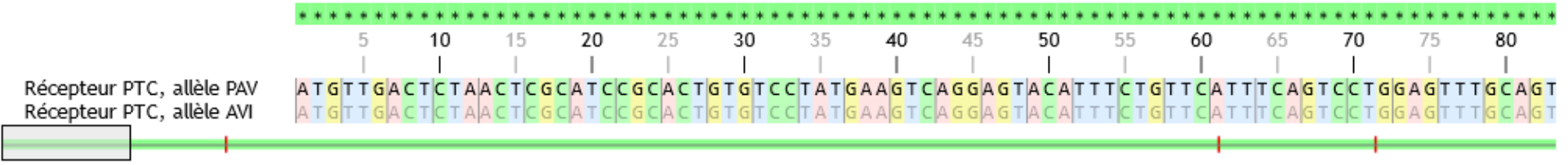
### Séquences chargées

similaires différentes



### Séquences alignées

un \_ représente un gap (absence de nucléotide)

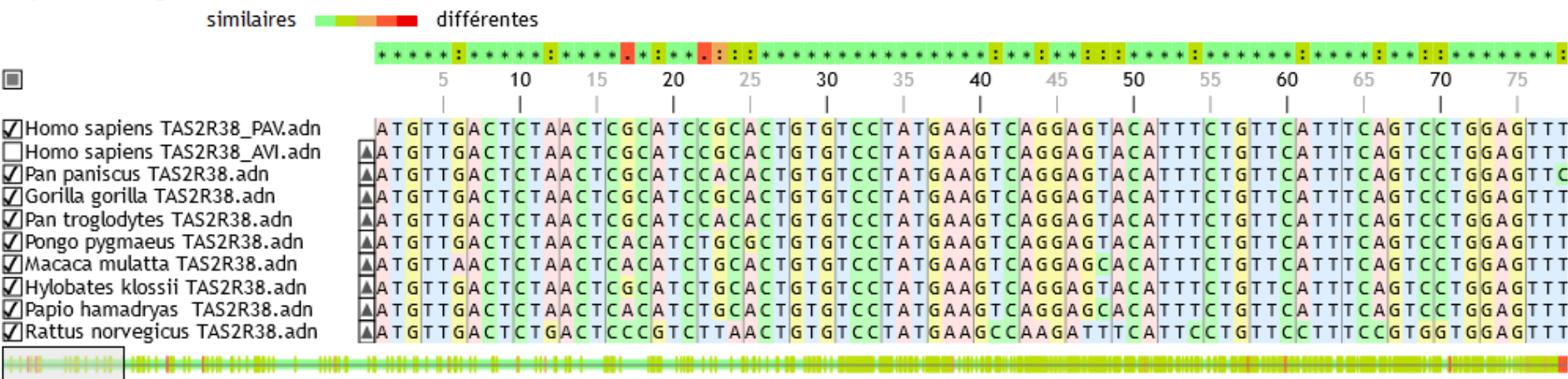


Position du nucléotide	Nucléotide		Codon		Acide aminé	
	PAV	AVI	PAV	AVI	PAV	AVI

# Test de la sensibilité au PTC : établissement du phénotype

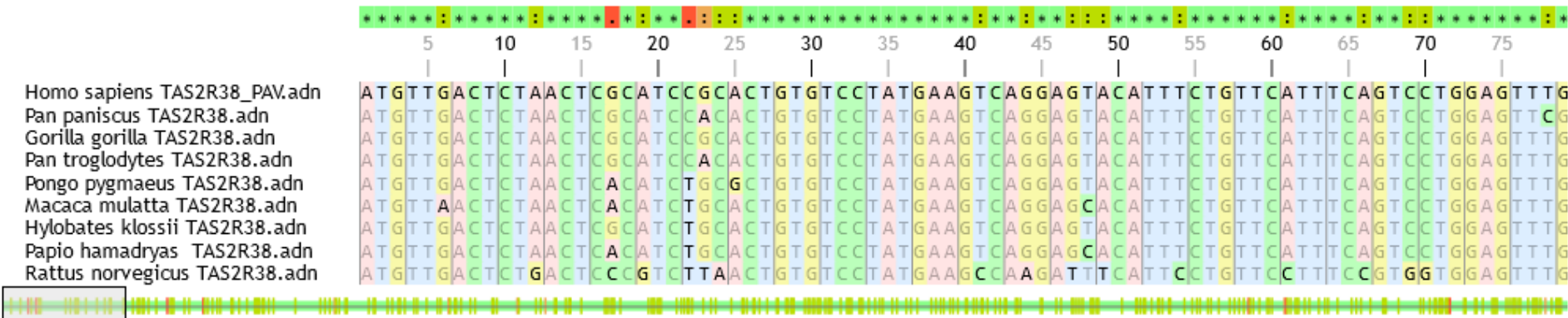
Groupe 1	témoin	PTC	Génotype attendu	Groupe 2	témoin	PTC	Génotype attendu
<b>Clara</b>	-	x		Juliette Be	-	x	
Marine	-	x		Chiara	-	xxx	
Julie G	-	xx		Amandine	-	xxx	
Julie B	-	-		<b>Vic</b>	-	-	
<b>Héloïse</b>	-	xx		Marc D	-	-	
Séléna	-	xx		<b>Lucie</b>	-	xxx	
<b>Aymeric</b>	-	xx		<b>Paul</b>	-	x	
Arthur	-	xx		Juliette Br	-	x	
<b>Adrien</b>	-	x		Céleste	-	x	
Isabella	-	xx		<b>Anna</b>	-	-	
Aliénor	-	-		Alice	-	x	
<b>Yohann</b>	-	-		Emie	-	x	
<b>Laurette</b>	-	x		<b>Ambre</b>	-	x	
Heiva	-	xx		Amelle	-	xxx	
<b>Juliette G</b>	-	xxx		Camille	-	-	
Aimie	-	xx		<b>Louka</b>	-	-	
Cathy	-	x		Claire-Elise	-	x	
<b>Katia</b>	-	xx		<b>Louis</b>	-	-	
<b>Lilou</b>	-	-		<b>Marc B</b>	-	xxx	
Louise	x	xx		<b>Colin</b>	-	x	
				Thibaud	-	-	

Séquences chargées



Séquences alignées

un \_ représente un gap (absence de nucléotide)





### Séquences chargées

similaires différentes

Récepteur PTC, allèle PAV  
 Récepteur PTC, allèle AVI

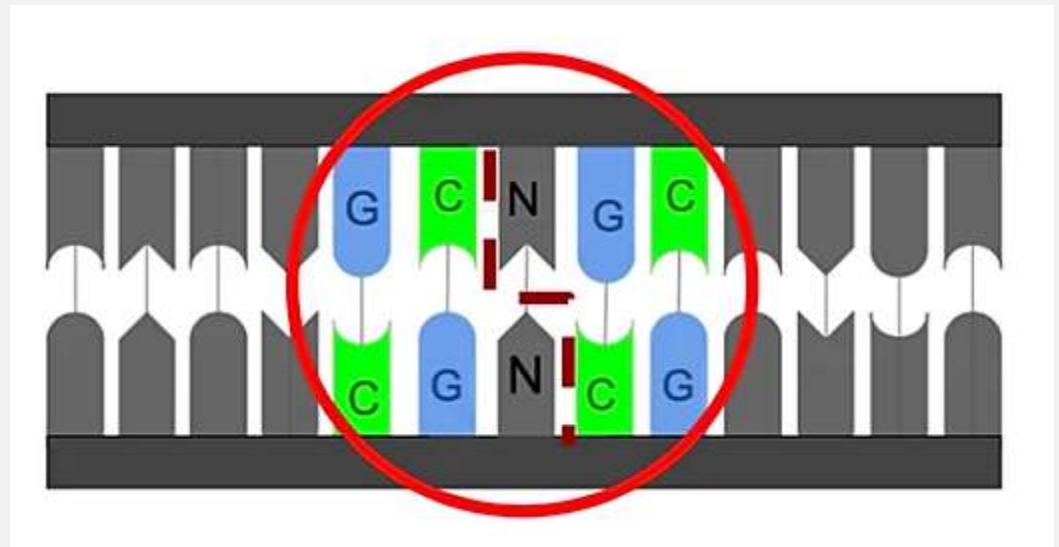
5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80																																																											
A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	C	G	C	A	C	T	G	T	G	T	C	C	T	A	T	T	G	A	A	G	T	C	A	T	T	T	C	T	G	T	T	C	A	T	T	T	C	A	G	T	C	C	T	G	G	A	G	T	T	T	G	C	A	G

Séquences après action de l'enzyme :

120	125	130	135	140	145	150	155	160	165	170	175	180	185	190	195																																																																					
G	A	A	T	T	T	T	G	G	G	A	T	G	T	A	G	T	G	A	A	G	A	G	G	C	A	G	C	C	A	C	T	G	A	G	C	A	A	C	A	G	T	G	A	T	T	G	T	G	T	C	T	A	A	C	A	C	A	C	G	A	C	G	A	C	A	C	A	G	A	G	T	C	G	T	A	G	T	C	G	G	C	C	G	A

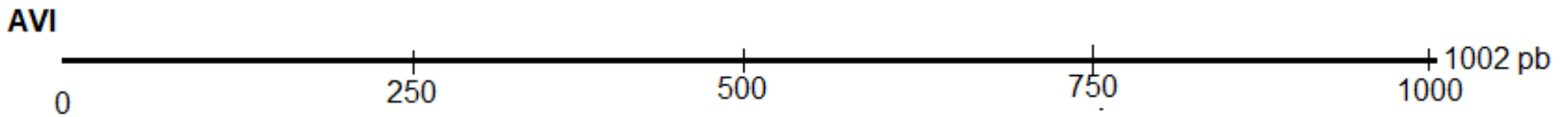
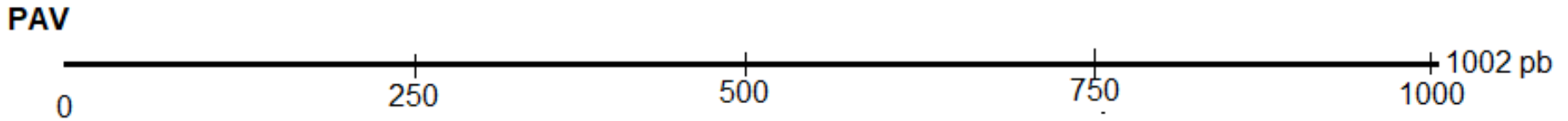
# Restriction Enzyme : Fnu4HI : enzyme de restriction

Site de restriction  
de l'enzyme

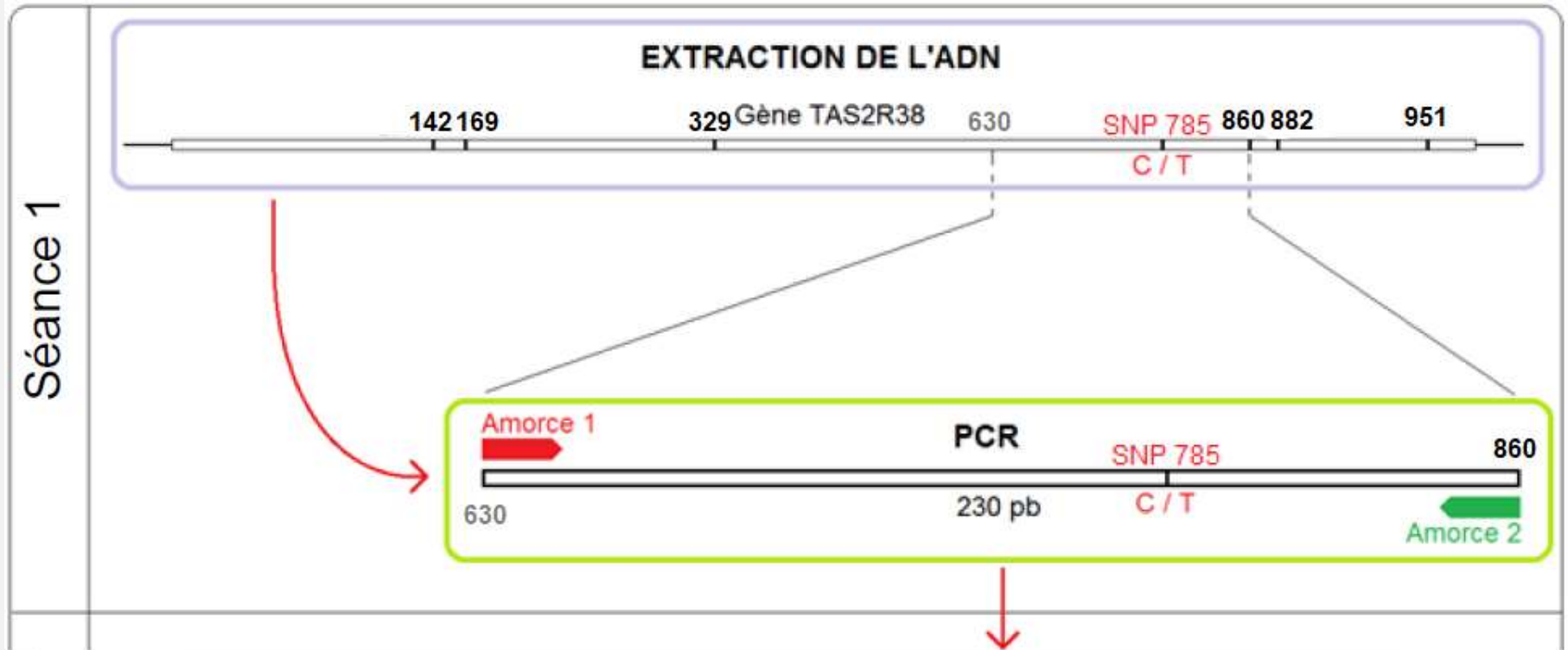




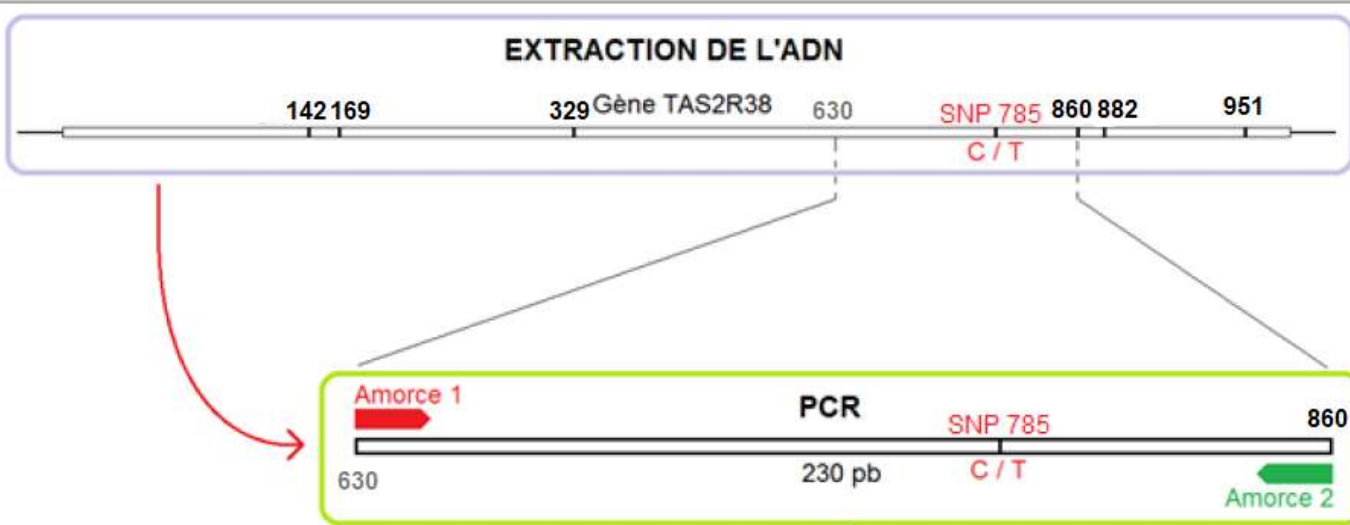
# Cartes de restriction pour les allèles PAV et AVI (enzyme Fnu4HI)



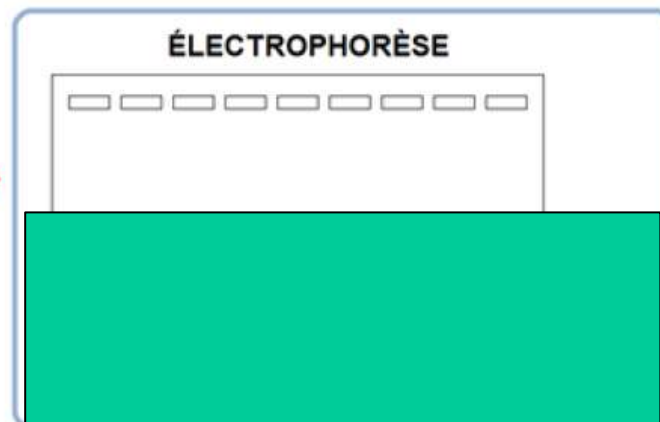
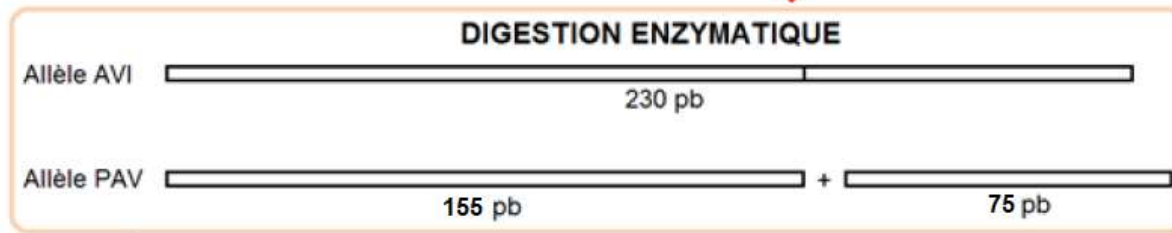
# Amplification d'une séquence du gène TAS2R38 par PCR



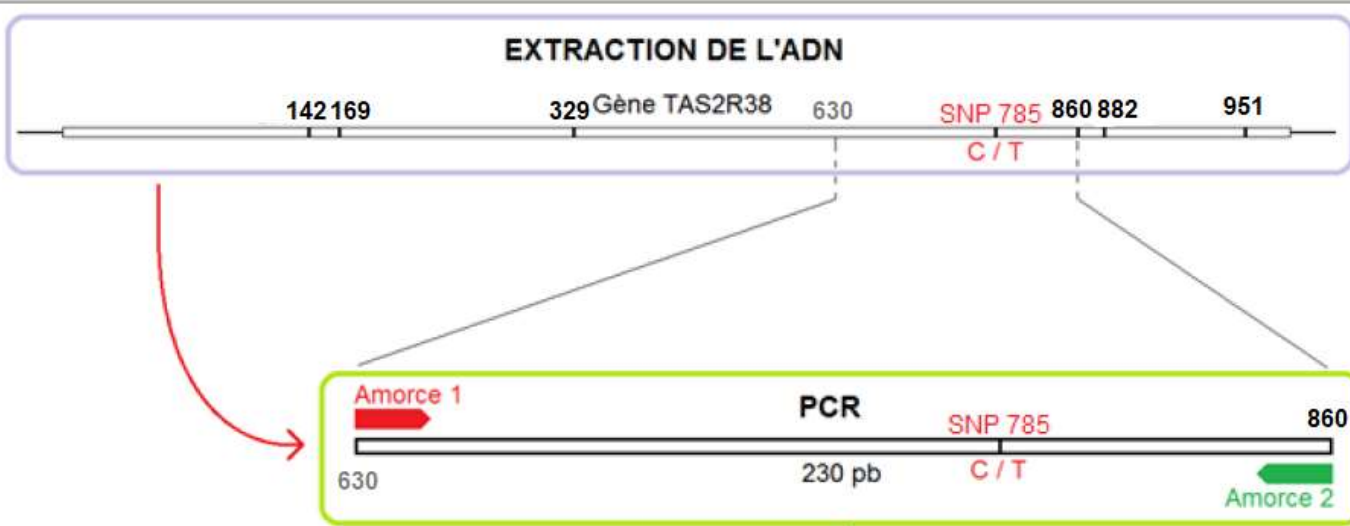
Séance 1



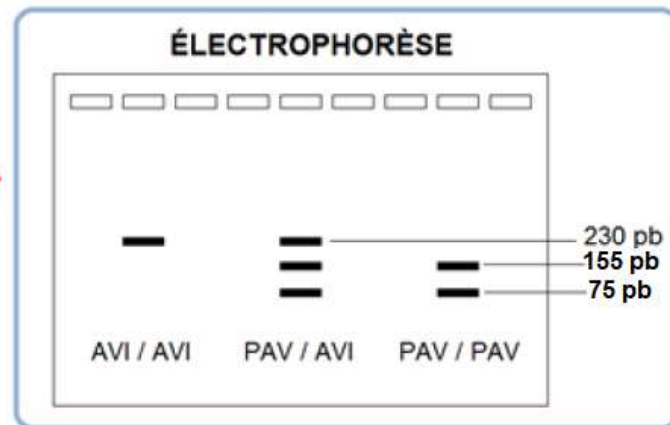
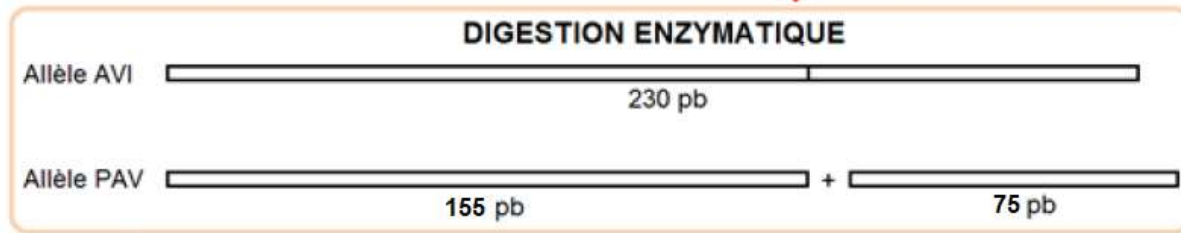
Séance 2



Séance 1



Séance 2



en %  identités  noms complets

### Matrice d'identité :

(pourcentage d'identités)

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
<i>Homo sapiens</i> TAS2R38_PAV.adn (1)	100	99,1	99,4	99,4	97,9	96,91	97,6	97,31	76,25
<i>Pan paniscus</i> TAS2R38.adn (2)	99,1	100	99,1	99,7	97,8	96,81	97,31	97,21	75,65
<i>Gorilla gorilla</i> TAS2R38.adn (3)	99,4	99,1	100	99,4	98,1	97,11	97,8	97,5	75,85
<i>Pan troglodytes</i> TAS2R38.adn (4)	99,4	99,7	99,4	100	97,9	97,11	97,6	97,5	75,95
<i>Pongo pygmaeus</i> TAS2R38.adn (5)	97,9	97,8	98,1	97,9	100	96,61	97,11	97,01	75,75
<i>Macaca mulatta</i> TAS2R38.adn (6)	96,91	96,81	97,11	97,11	96,61	100	96,31	99	75,55
<i>Hylobates klossii</i> TAS2R38.adn (7)	97,6	97,31	97,8	97,6	97,11	96,31	100	96,71	75,35
<i>Papio hamadryas</i> TAS2R38.adn (8)	97,31	97,21	97,5	97,5	97,01	99	96,71	100	75,85
<i>Rattus norvegicus</i> TAS2R38.adn (9)	76,25	75,65	75,85	75,95	75,75	75,55	75,35	75,85	100

Identité globale : 95,72 %

Le pourcentage d'identités est calculé en divisant le nombre d'identités (matches) par la longueur de l'alignement.

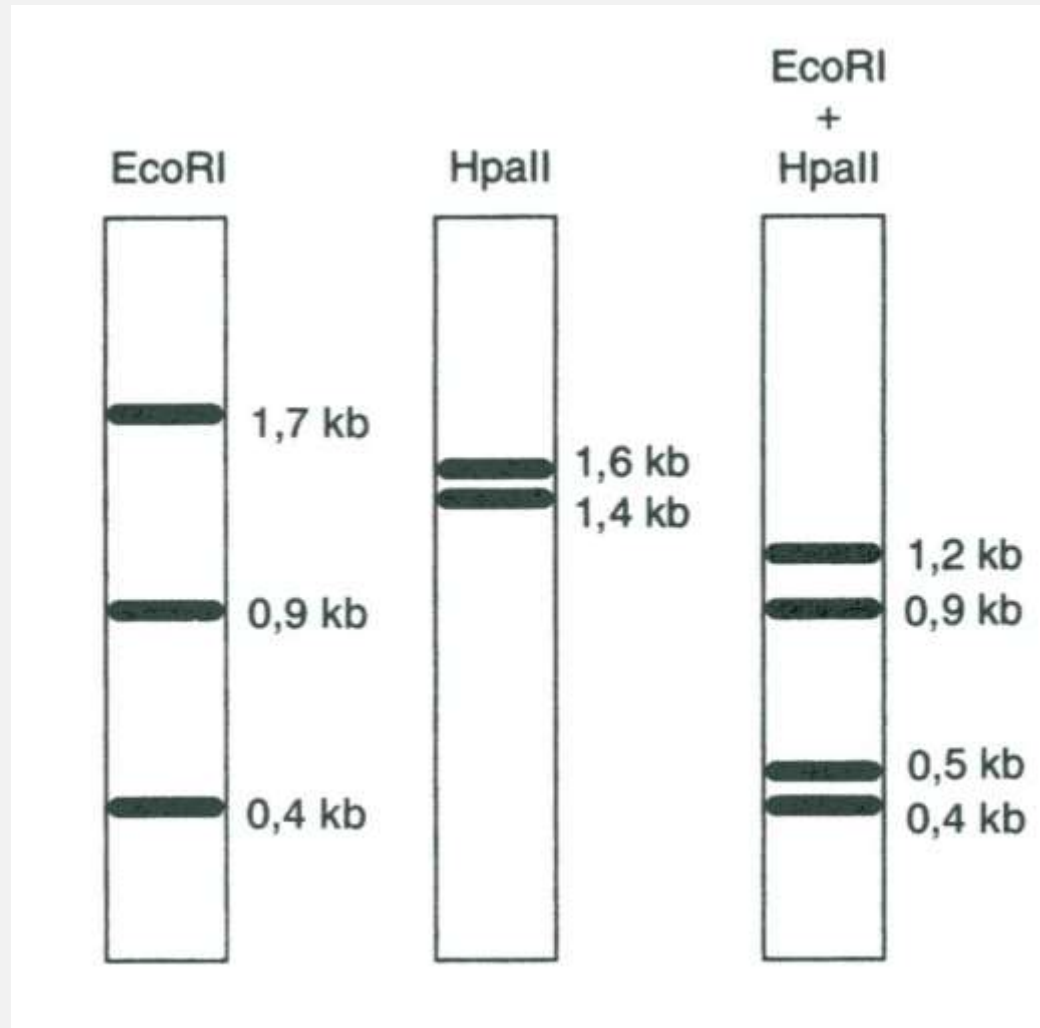
Les gaps communs aux 2 séquences sont décomptés de cette longueur, ainsi que les gaps consécutifs qui ne sont comptabilisés qu'une seule fois.

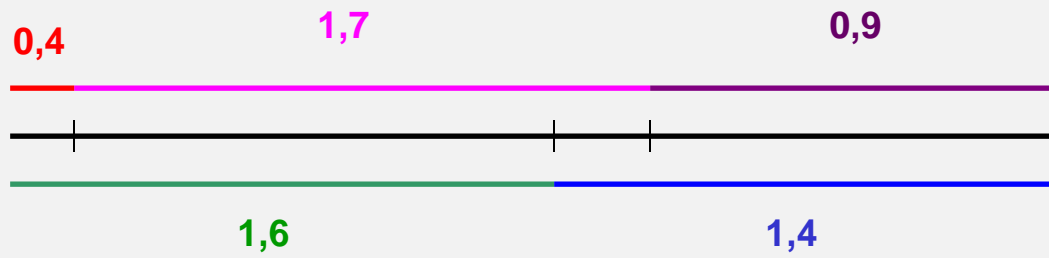
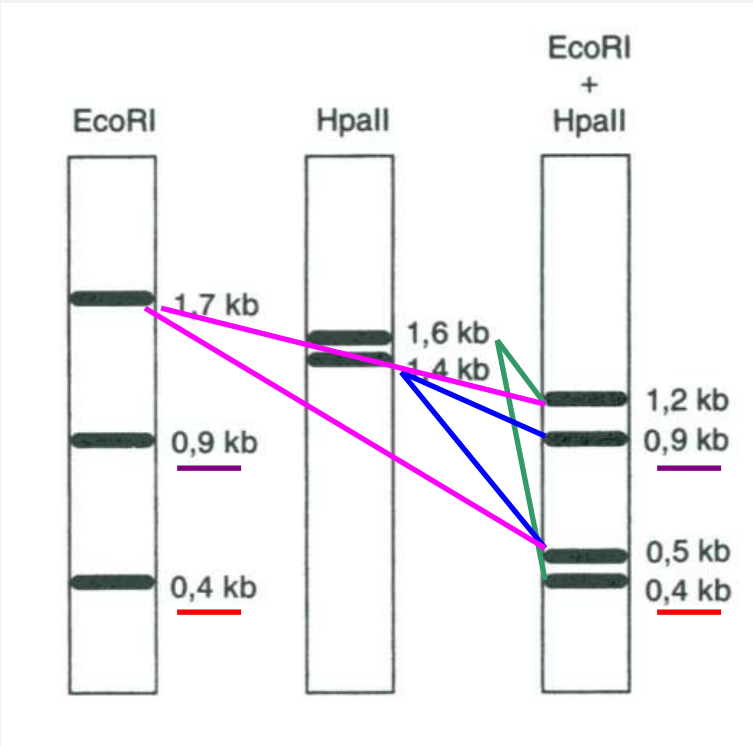
# Phénogramme



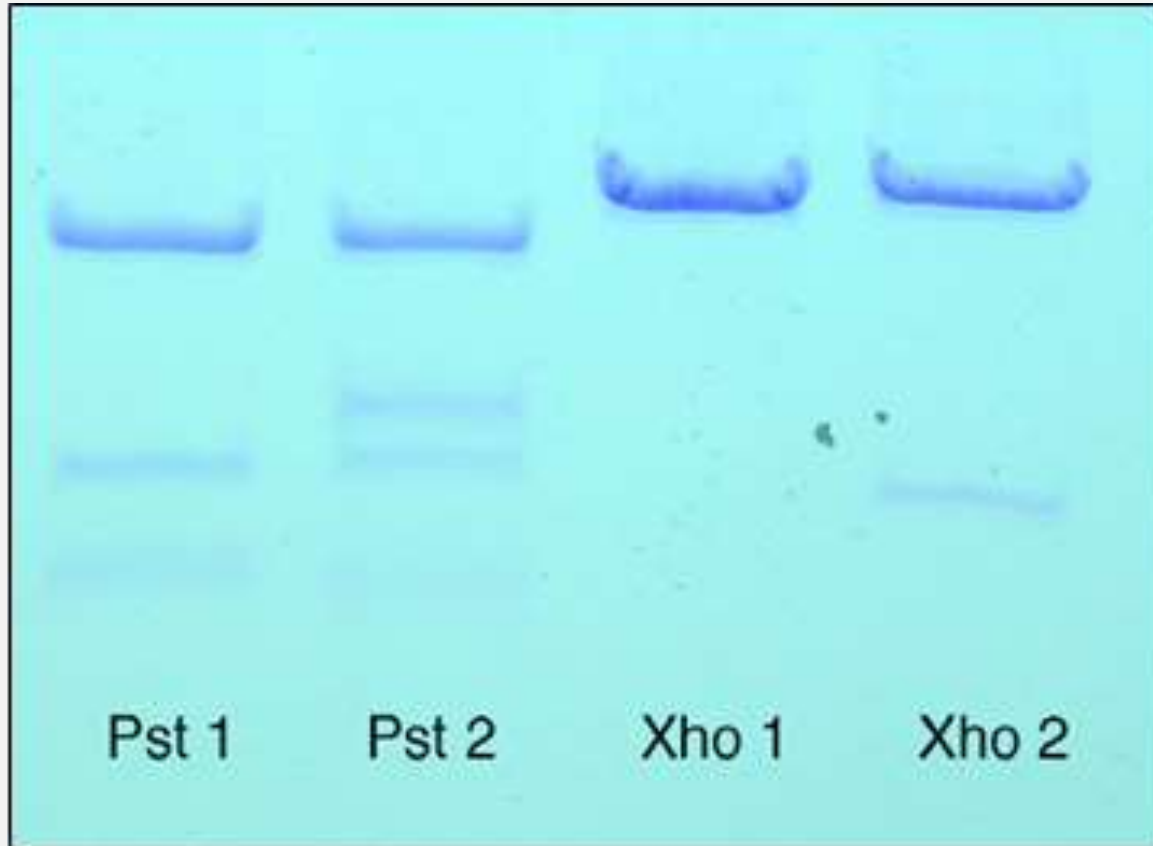


# Exercise 1





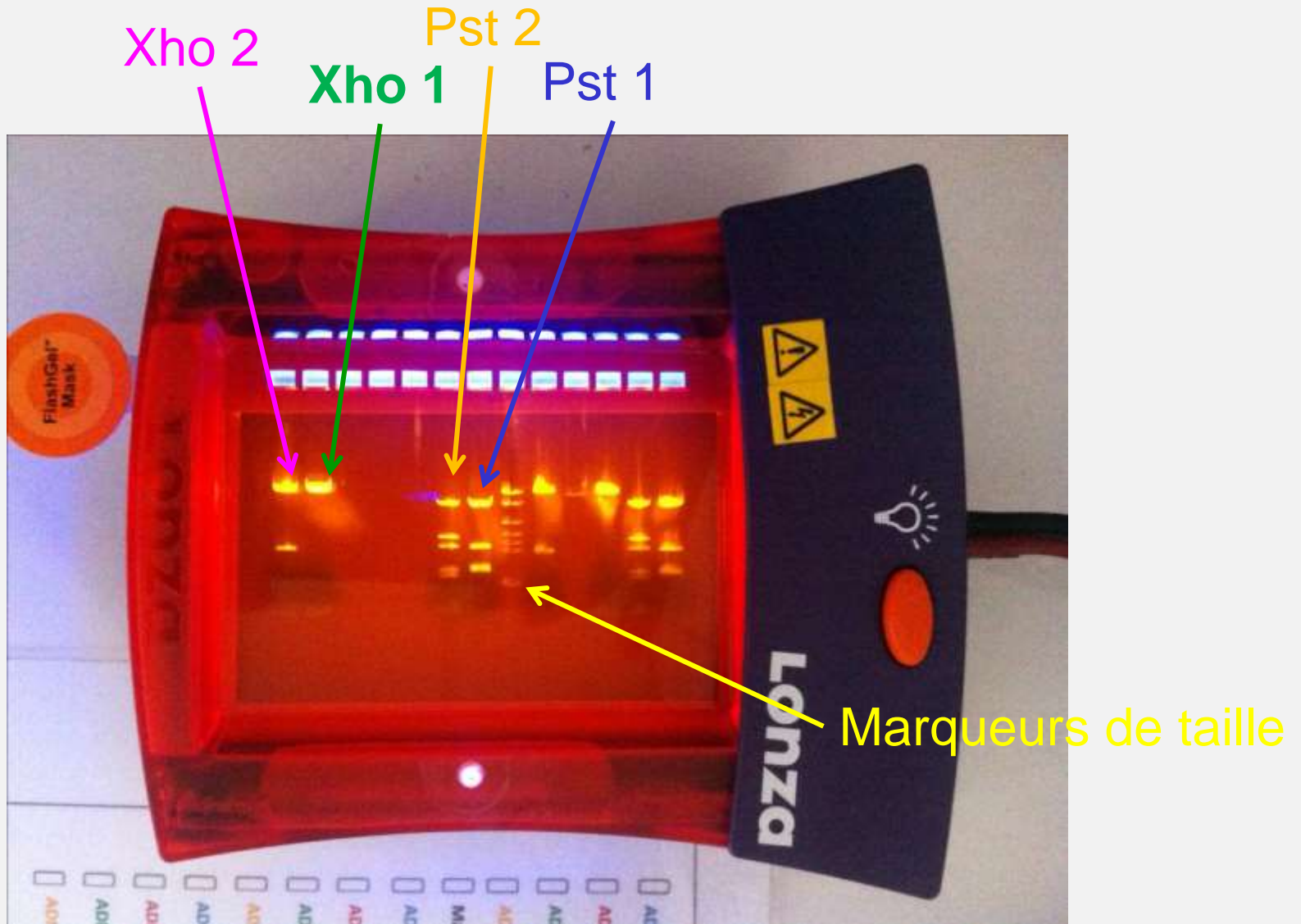
# Exemple de résultats



**Résultats obtenus.** L'indice 1 ou 2 fait référence à l'ADN testé (ADN1 ou ADN2).

# Résultats obtenus

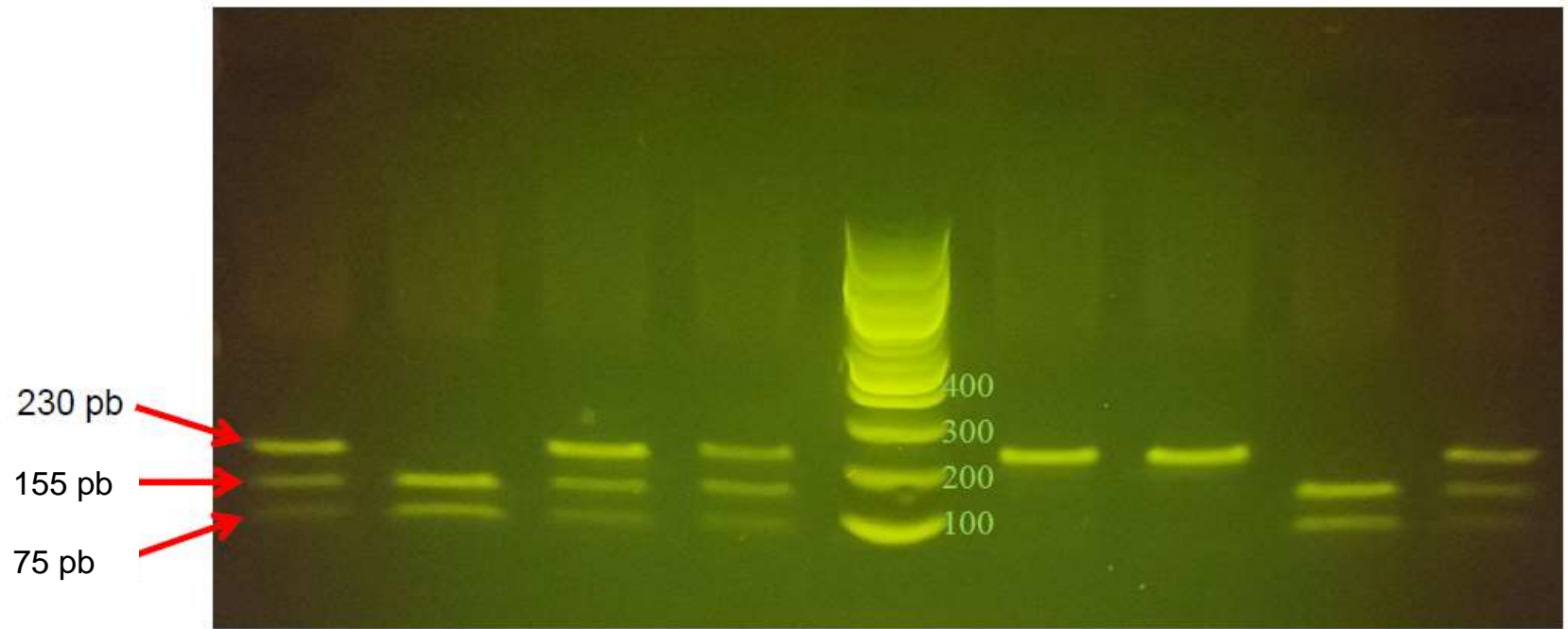
L'indice 1 ou 2 fait référence à l'ADN testé (ADN1 ou ADN2).



# Test de la sensibilité au PTC : établissement du phénotype

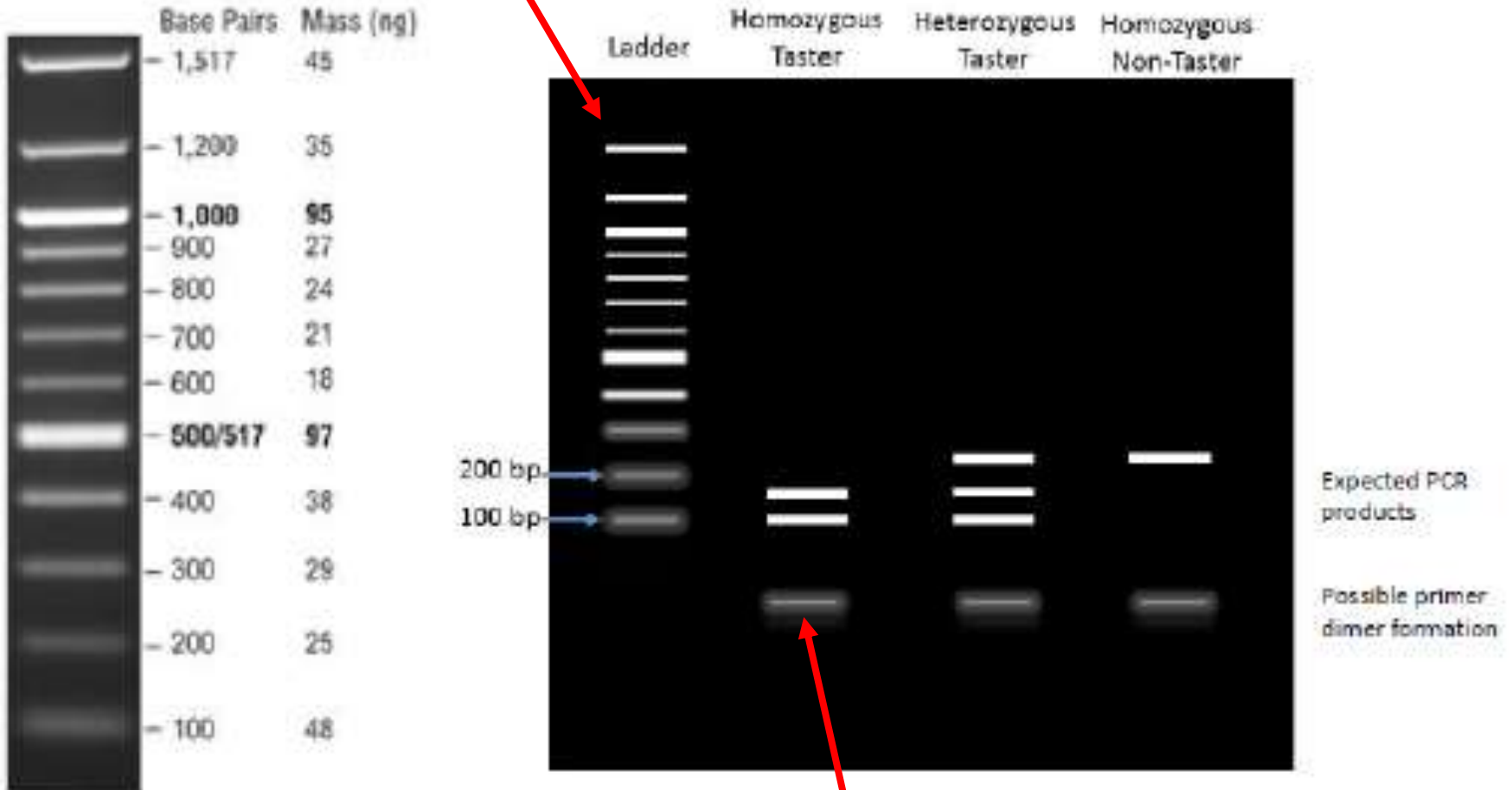
Groupe 1	témoin	PTC	Génotype attendu	Groupe 2	témoin	PTC	Génotype attendu
<b>Clara</b>	-	x		Juliette Be	-	x	
Marine	-	x		Chiara	-	xxx	
Julie G	-	xx		Amandine	-	xxx	
Julie B	-	-		<b>Vic</b>	-	-	
<b>Héloïse</b>	-	xx		Marc D	-	-	
Séléna	-	xx		<b>Lucie</b>	-	xxx	
<b>Aymeric</b>	-	xx		<b>Paul</b>	-	x	
Arthur	-	xx		Juliette Br	-	x	
<b>Adrien</b>	-	x		Céleste	-	x	
Isabella	-	xx		<b>Anna</b>	-	-	
Aliénor	-	-		Alice	-	x	
<b>Yohann</b>	-	-		Emie	-	x	
<b>Laurette</b>	-	x		<b>Ambre</b>	-	x	
Heiva	-	xx		Amelle	-	xxx	
<b>Juliette G</b>	-	xxx		Camille	-	-	
Aimie	-	xx		<b>Louka</b>	-	-	
Cathy	-	x		Claire-Elise	-	x	
<b>Katia</b>	-	xx		<b>Louis</b>	-	-	
<b>Lilou</b>	-	-		<b>Marc B</b>	-	xxx	
Louise	x	xx		<b>Colin</b>	-	x	
				Thibaud	-	-	

## RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX ET ANALYSE





# Marqueurs de taille



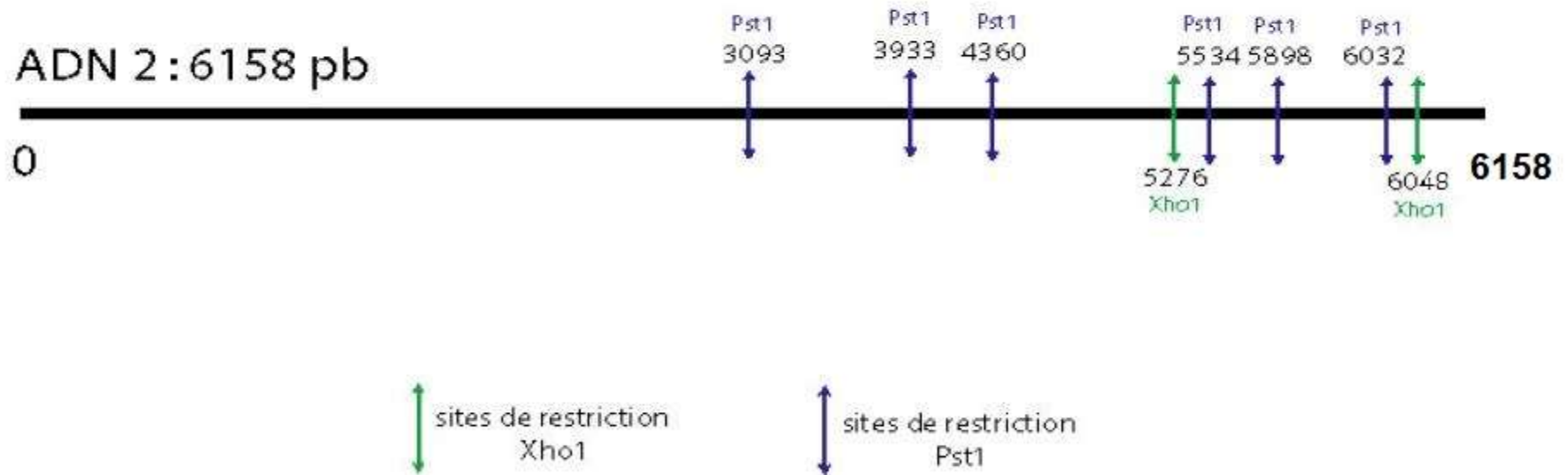
Éventuellement, dimères de séquences amorces

Résultats  
complets  
avec les deux  
enzymes de  
restriction  
utilisées  
séparément  
puis  
ensemble

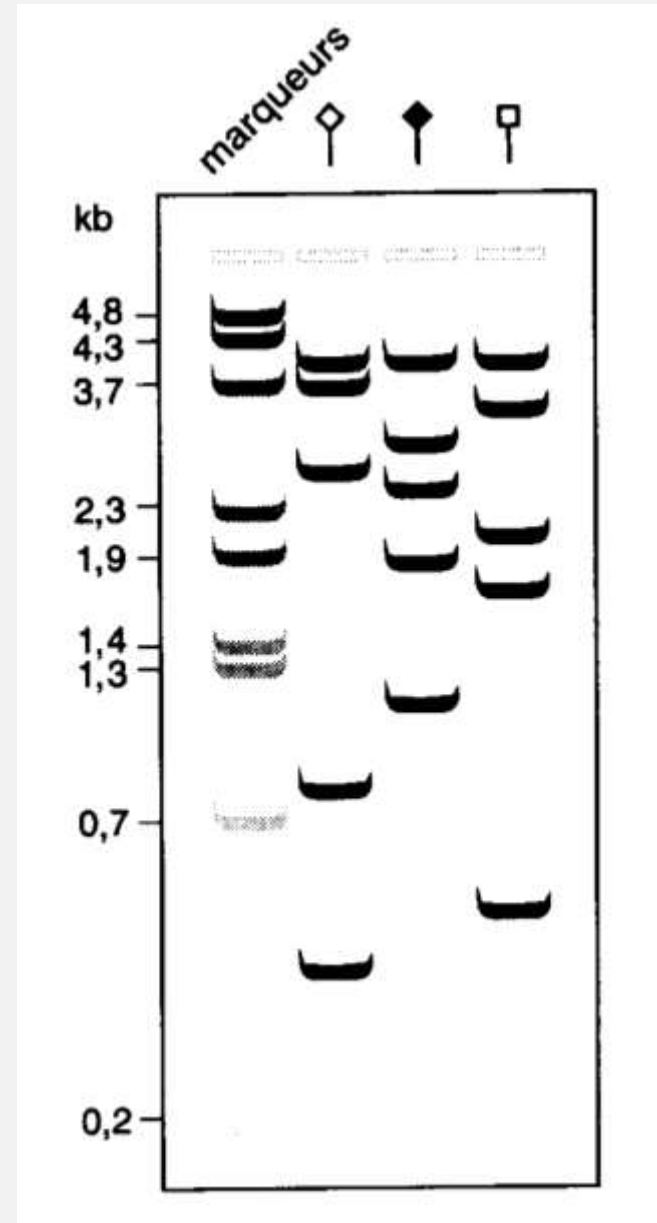
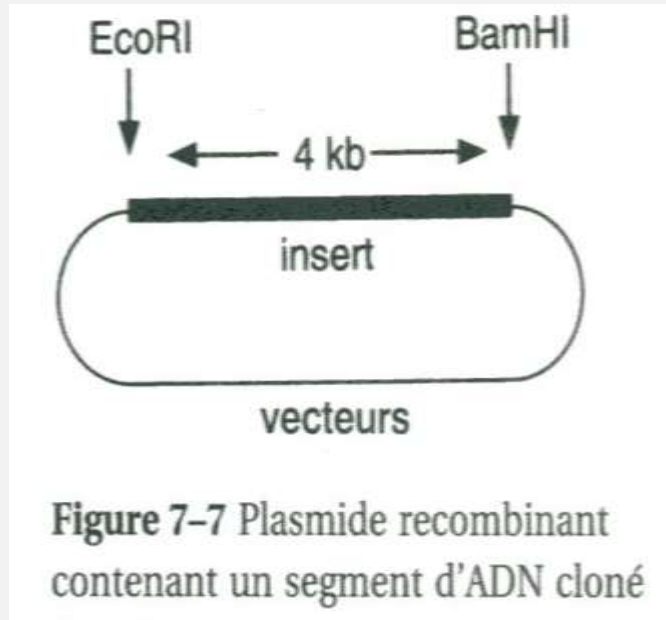
	5276	
3093		3093
1174		916
840	772	840
427		427
364		364
		258
134		134
126	110	110
		(16)
ADN 2 digéré par Pst 1	ADN 2 digéré par Xho 1	ADN 2 digéré par Pst 1 et Xho 1

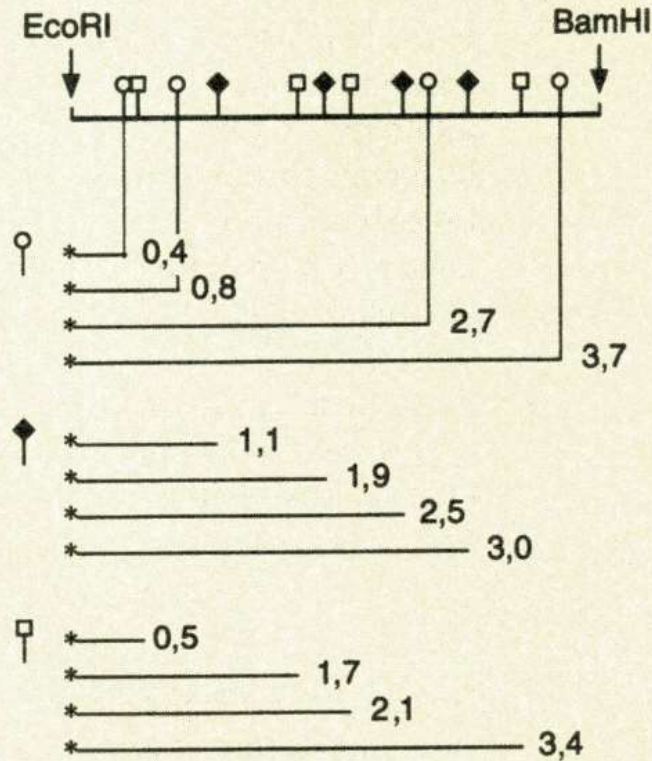
	<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> 5276	
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>3093</u>		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>3093</u>
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> 1174		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> 916
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>840</u>	<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> 772	<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>840</u>
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>427</u>		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>427</u>
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>364</u>		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>364</u>
		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> 258
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>134</u>		<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>134</u>
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> 126	<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> 110	<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin-bottom: 5px;"></div> <u>110</u>
		(16)
ADN 2 digéré par Pst 1	ADN 2 digéré par Xho 1	ADN 2 digéré par Pst 1 et Xho 1

# Carte de restriction de l'ADN 2



# Exercice 2

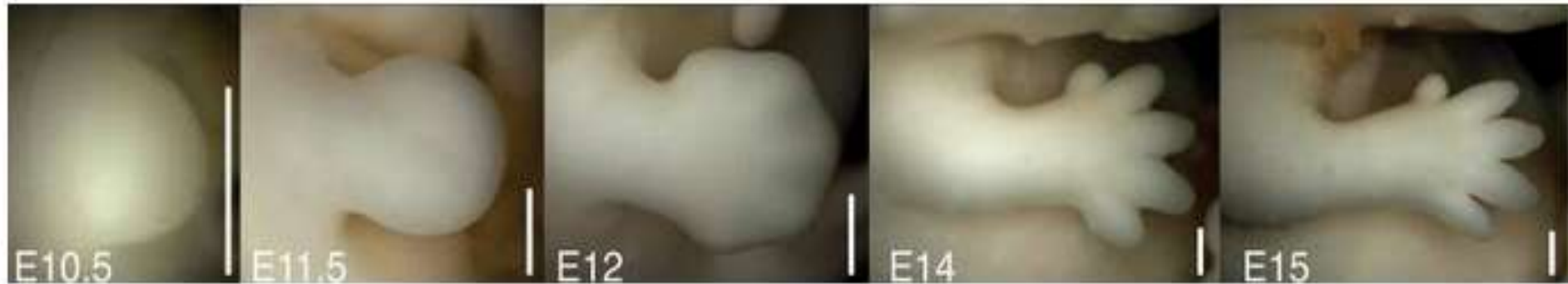




**Figure 7-32** Carte de restriction du segment d'ADN cloné et produits de digestion partielle à partir desquels elle a été déduite (Solution 7-10). Les nombres accompagnant les fragments de restriction indiquent leur taille, telle qu'elle peut être estimée d'après la Figure 7-8.

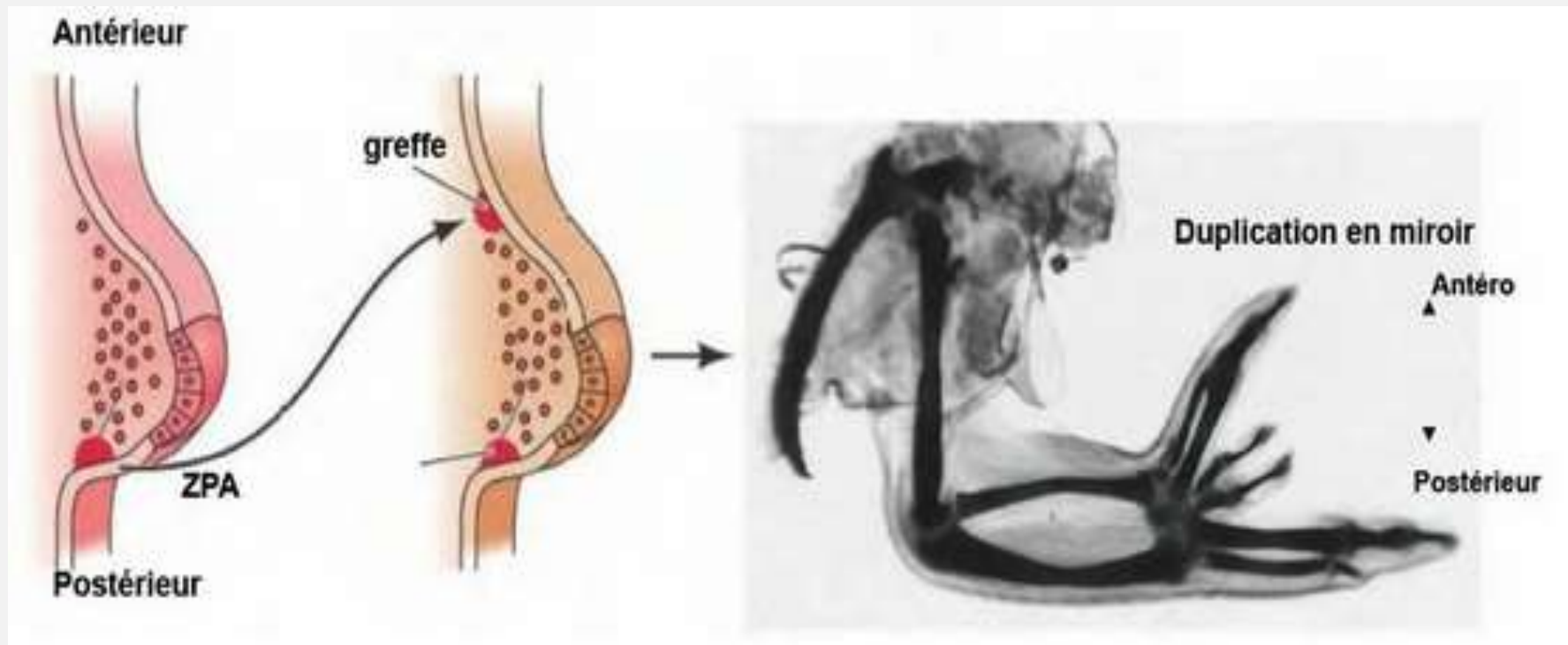


# Etude d'un exemple : la polydactylie



## **Développement embryonnaire d'un membre antérieur de souris.**

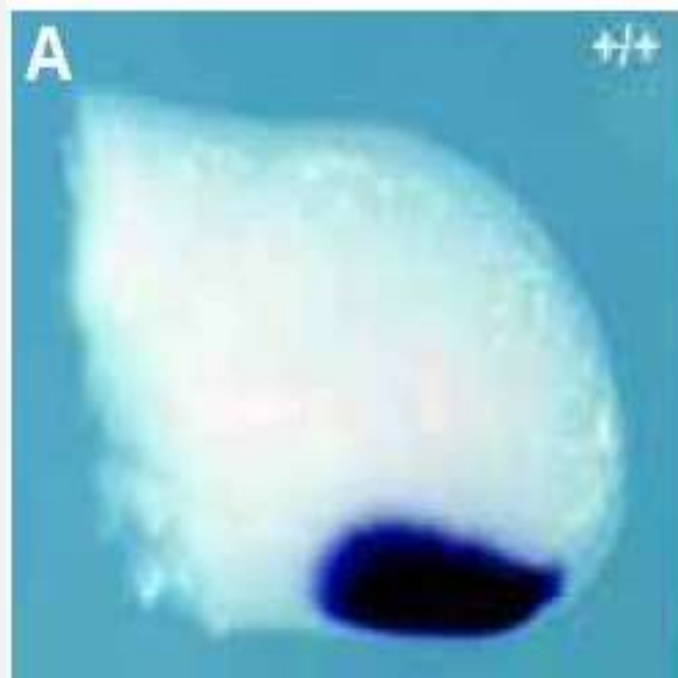
Les valeurs en bas de chaque image indiquent le nombre de jours après fécondation.



## Expérience de greffe chez le Poulet : protocole et résultats.

La disposition normale des doigts est 4, 3, 2 (pas de doigt 1 au niveau de l'aile de Poulet). Ici la disposition observée est 4, 3, 2, 2, 3, 4. Les trois doigts surnuméraires proviennent du bourgeon sur lequel on a réalisé la greffe et non du greffon.

# Etude du domaine d'expression du gène Shh au cours du développement du membre

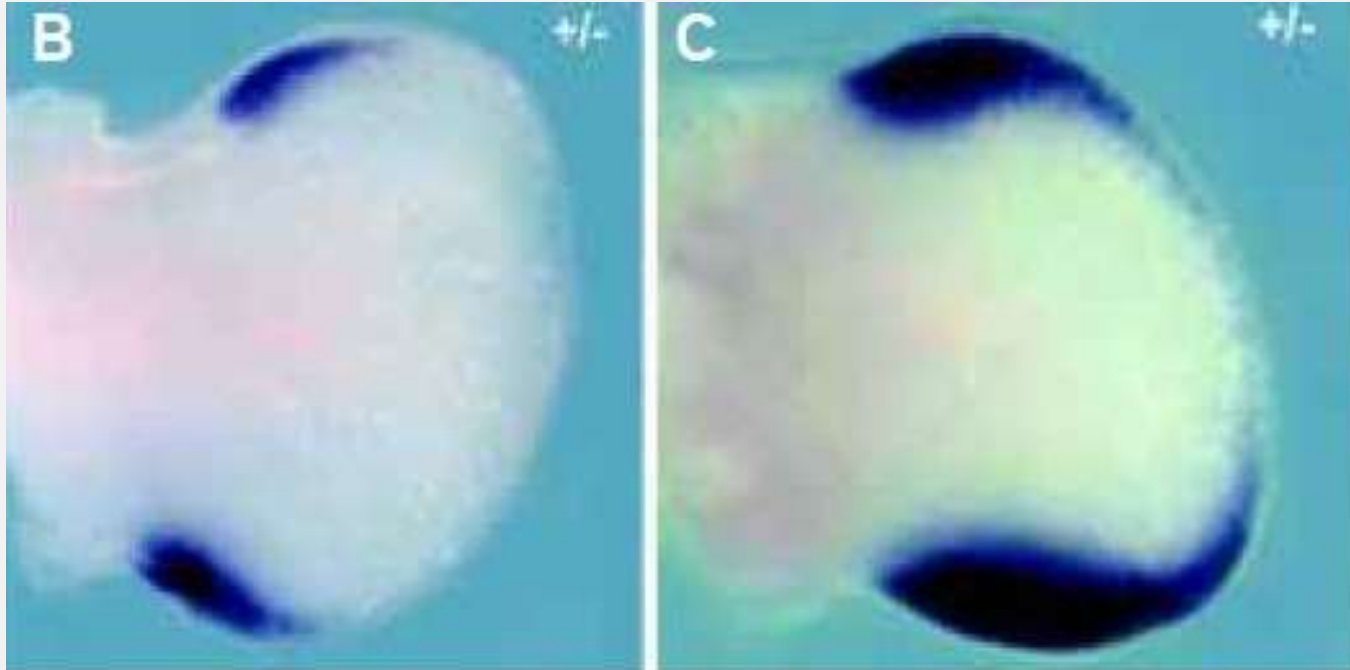


**Résultats à 11,5 jours de gestation  
chez l'embryon de souris normale.**

La région antérieure est en haut.

Des taches violettes apparaissent à partir de 9,5 jours, et à 12 jours de gestation on n'en distingue plus.

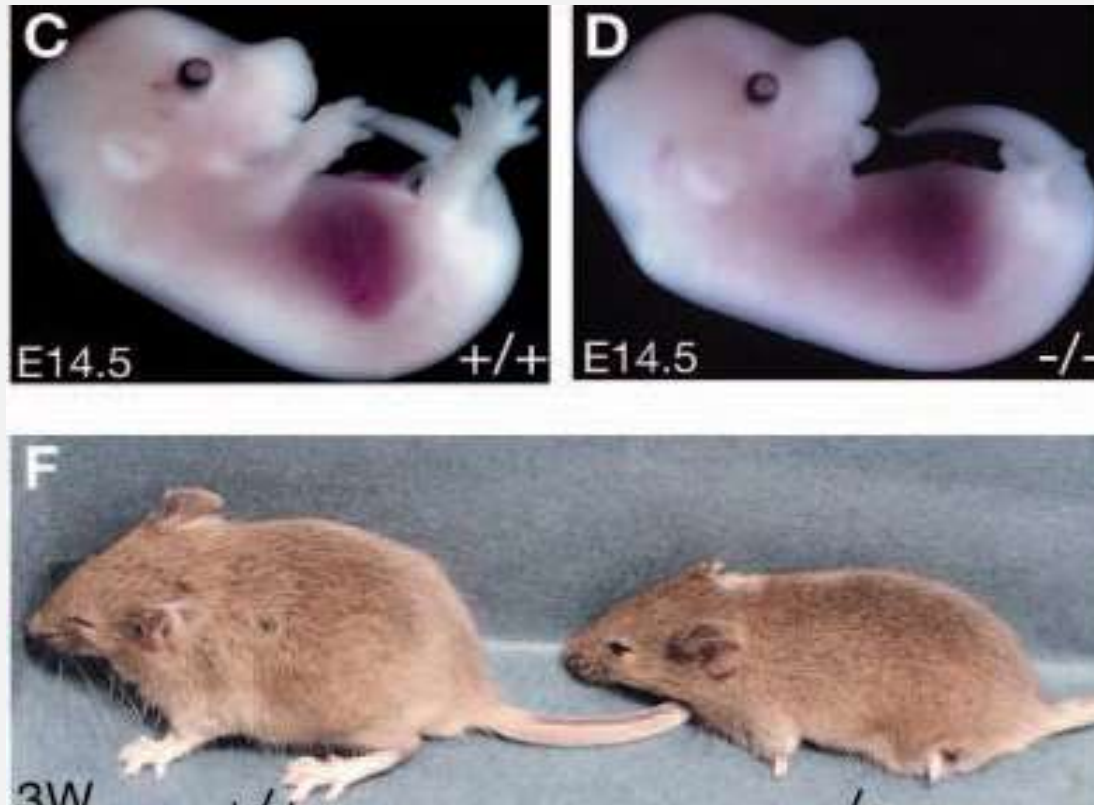
# Etude du domaine d'expression du gène Shh au cours du développement du membre



**Résultats à 11,5 jours de gestation  
chez l'embryon de souris polydactyle.**

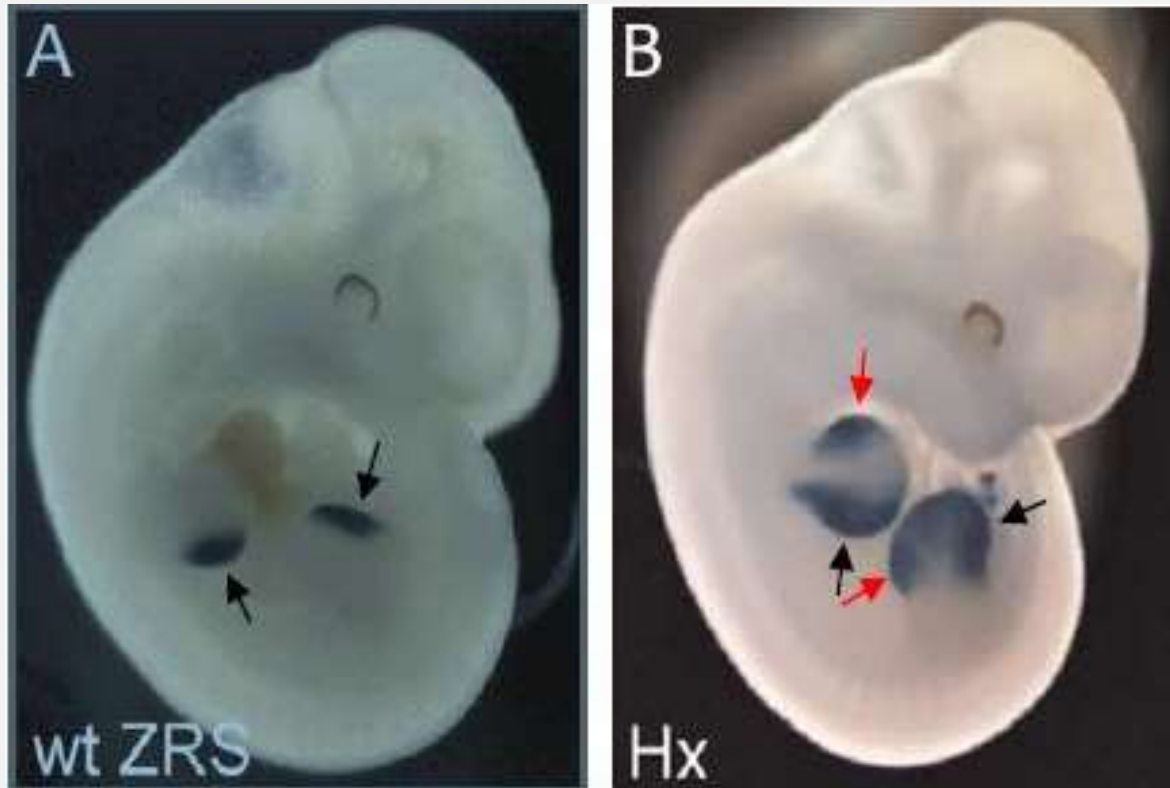
B : membre antérieur ; C : membre postérieur

# Expérience de délétion du gène ZRS



En C et D, développement des embryons normal (C) et de l'embryon chez lequel ZRS a été délété à 14,5 jours de gestation (D). En F, souriceaux correspondants âgés de 3 semaines.

# Expérience de transgénèse d'un gène rapporteur

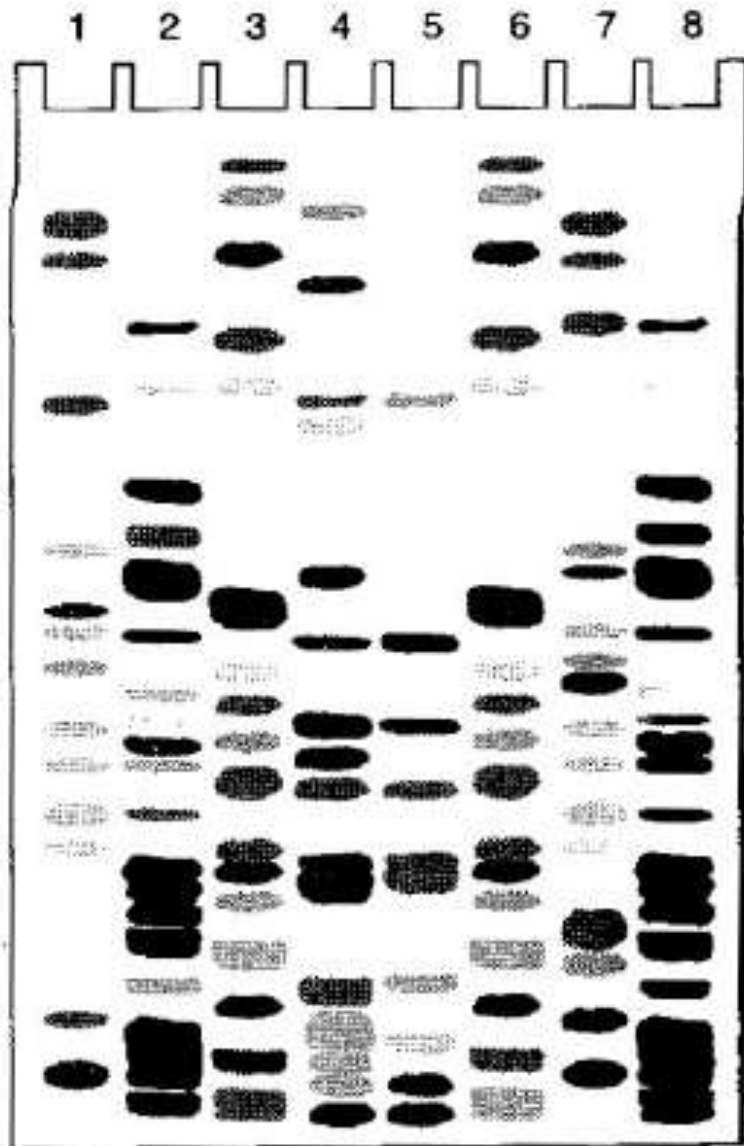


**Expression de LacZ dans un embryon transgénique de 11,5 jours.**

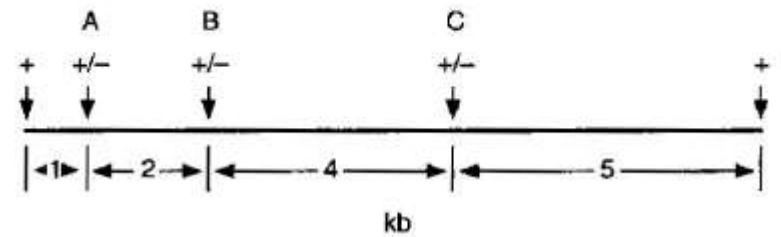
A : sous contrôle de la séquence ZRS normale.

B : sous le contrôle de la séquence ZRS mutée.

Cette expression est observée sur un membre antérieur et un membre postérieur. Les flèches noires indiquent la région postérieure des bourgeons des membres. Les flèches rouges la région antérieure.



(A) CARTE DE RESTRICTION



(B) GÉNÉALOGIE

