



**MUSÉUM D'HISTOIRE  
NATURELLE  
19, GRAND RUE  
BP 81295  
30015 NÎMES CEDEX 1  
FRANCE**

Informations techniques:

Site : [www.ecole-adn.fr](http://www.ecole-adn.fr)

Courriel: [siatka@ecole-adn.fr](mailto:siatka@ecole-adn.fr)

Commande:

Site: [www.apbg.org](http://www.apbg.org)

Courriel: [apbg@wanadoo.fr](mailto:apbg@wanadoo.fr)

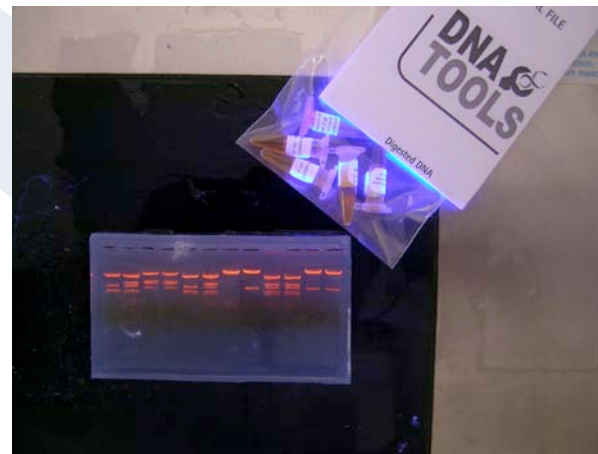
Ce document propose une interprétation des résultats obtenus par  
les kits DNA TOOLS:



DT-03 : empreinte et diagnostic génétiques

DT-06 : ADN hydrolysés, empreintes génétiques

DT-07 : ADN hydrolysés, diagnostic génétique



## Diagnostic génétique d'une pathologie

Commentaires et analyses des résultats obtenus avec le kit  
DT-03 version diagnostic génétique de pathologie  
ou le kit DT-07 ADN hydrolysés, diagnostic génétique



La présence dans ce kit de deux enzymes et deux ADN permet d'obtenir plusieurs combinaisons, ce qui laisse le choix à l'utilisateur d'avancer les problématiques selon les thématiques de son enseignement.

Deux exemples de problématiques sont proposés:

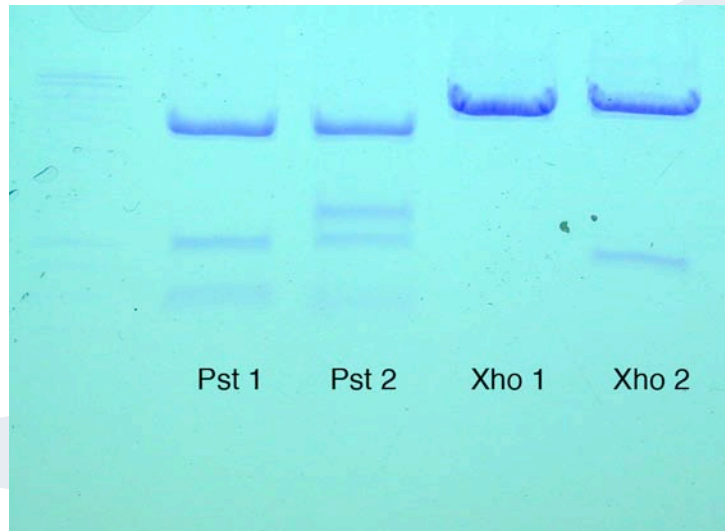
### Problématique n°1 : Comparaison génétique

Deux ADN sont analysés par des endonucléases de restriction.

Identifiez l'ADN pathologique, sachant qu'il y a un ADN représentatif de la population saine, et que la pathologie au niveau génétique est traduite par une perte d'ADN (une délétion).

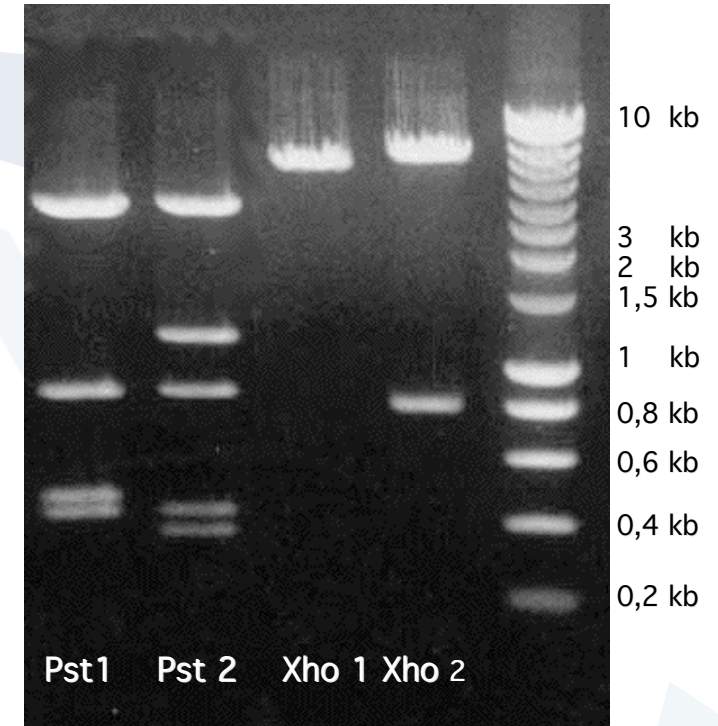


Diagnostic génétique d'une pathologie



coloration à l'azure A

Légende: Pst 1: ADN1 hydrolysé par l'enzyme Pst I  
Pst 2: ADN2 hydrolysé par l'enzyme Pst I  
Xho 1: ADN1 hydrolysé par l'enzyme Xho I  
Xho 2: ADN2 hydrolysé par l'enzyme Xho I

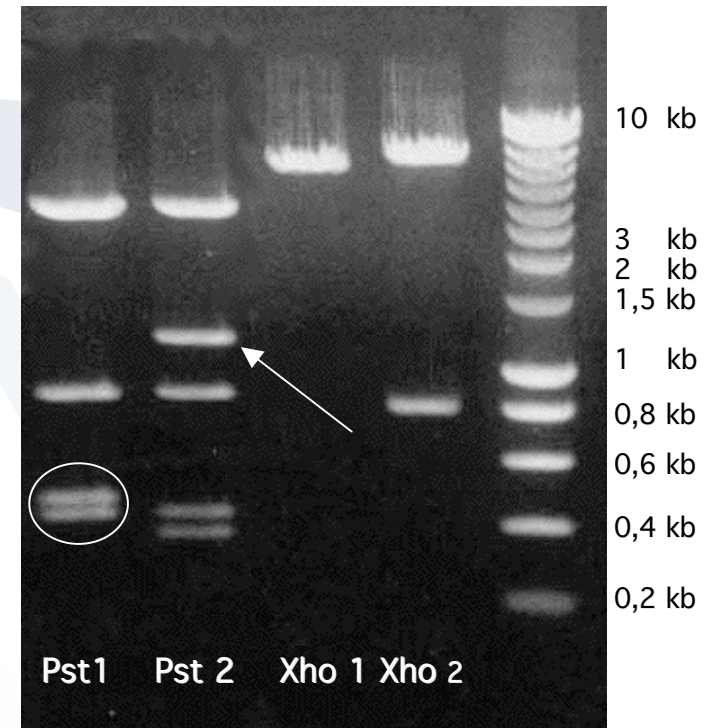
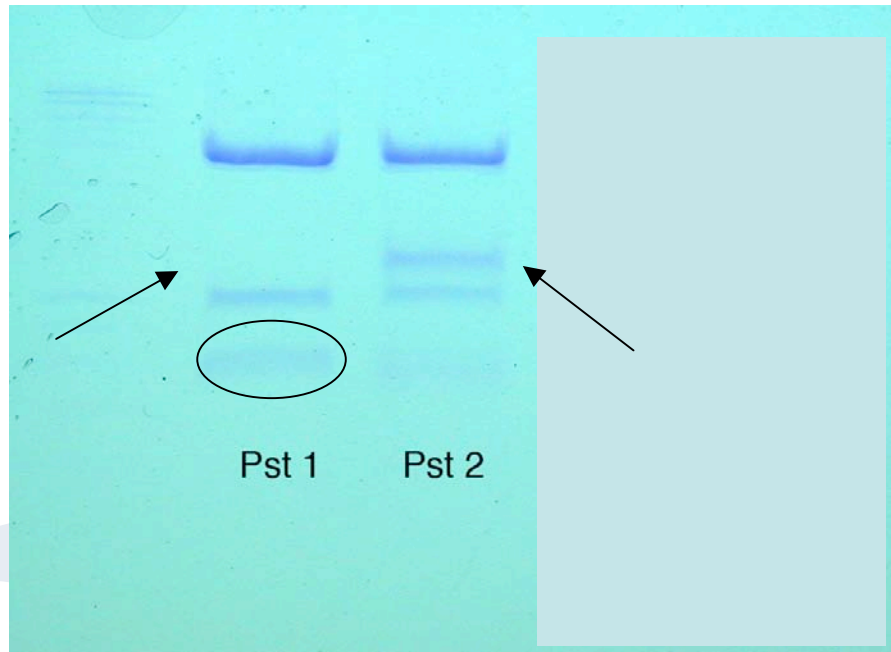


coloration au BET

Pst I: CTGCA↓G

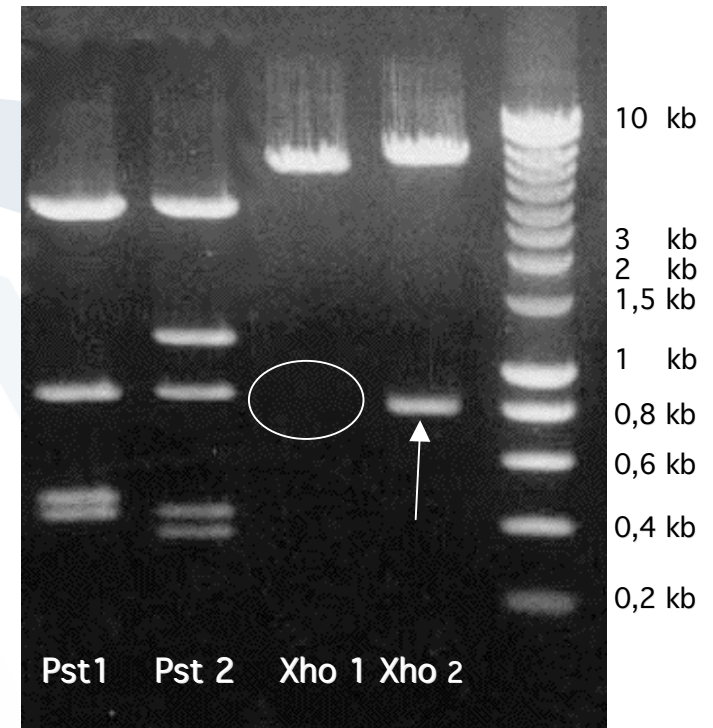
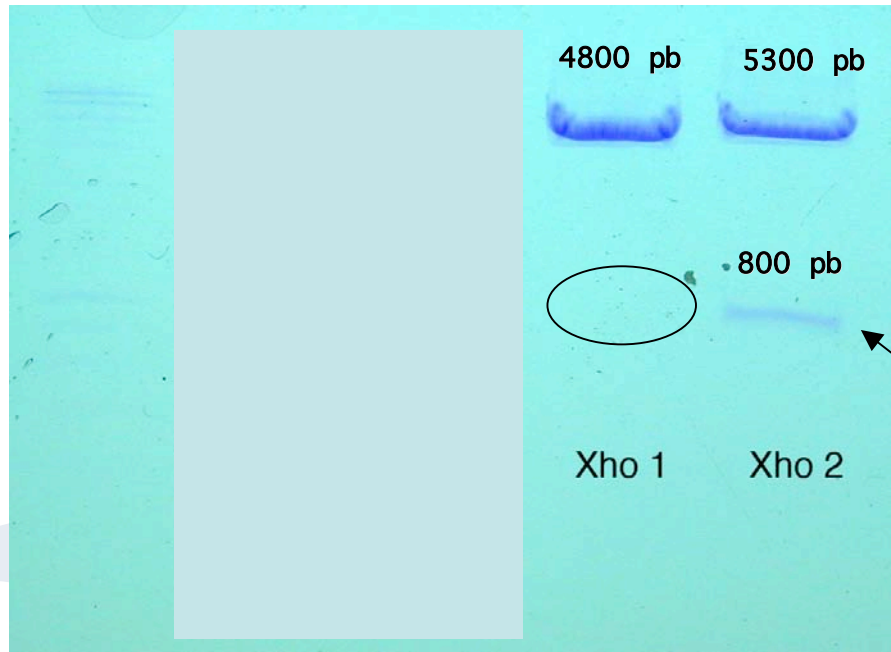
Xho I: C↓TCGAG





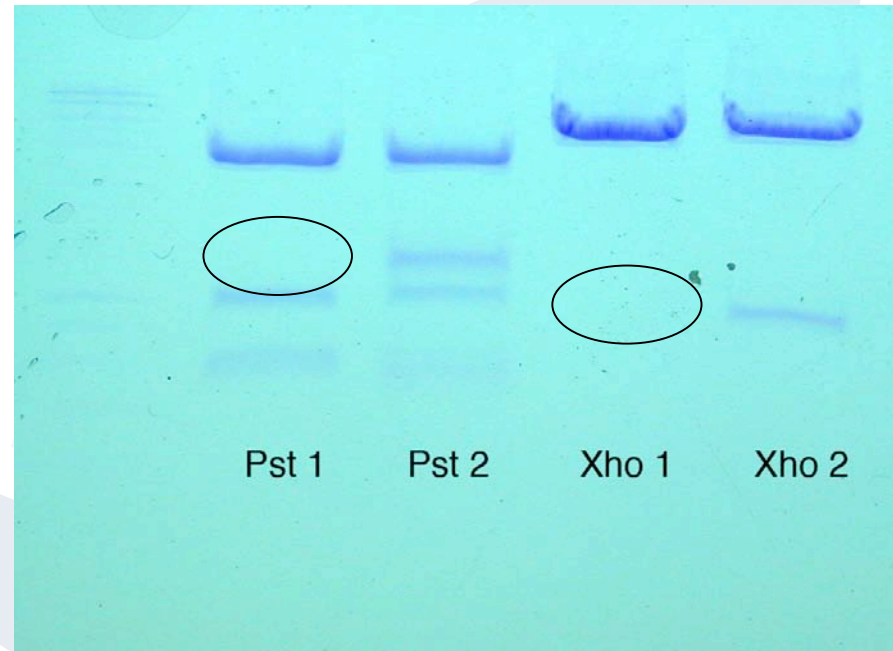
Comparaison de l'ADN 1 et l'ADN 2 hydrolysés par **Pst I**:

- L'ADN 1, présente 4 fragments ( attention: deux fragments très proches par leur taille sont confondus, voir la bulle, difficilement visible en azure A).
- L'ADN 2, présente 5 fragments visibles de tailles différentes, les fragments aux alentours de 400 pb sont difficiles à mettre en évidence en azure A.
- **Bilan: il y a un fragment d'ADN qui est absent chez l'ADN 1.**



Comparaison de l'ADN 1 et l'ADN 2 hydrolysés par **Xho I**:

- L'ADN 1 présente un seul fragment visible d'environ 4800 pb.
- L'ADN 2 présente deux fragments d'ADN, un de 5300 pb et un fragment supplémentaire de 800 pb (→).
- Bilan: il y a un fragment d'ADN de 800 pb qui est absent chez l'ADN 1 (bulle).



**Conclusion:**

Dans la mesure où la pathologie recherchée se caractérise par une délétion, l'ADN pathologique est l'ADN 1.



## Problématique 2 : Recherche d'une anomalie génétique

2/ L'ADN 2 est un échantillon issue d'une population saine qui sert de contrôle dans le cadre de la recherche d'une pathologie génétique.

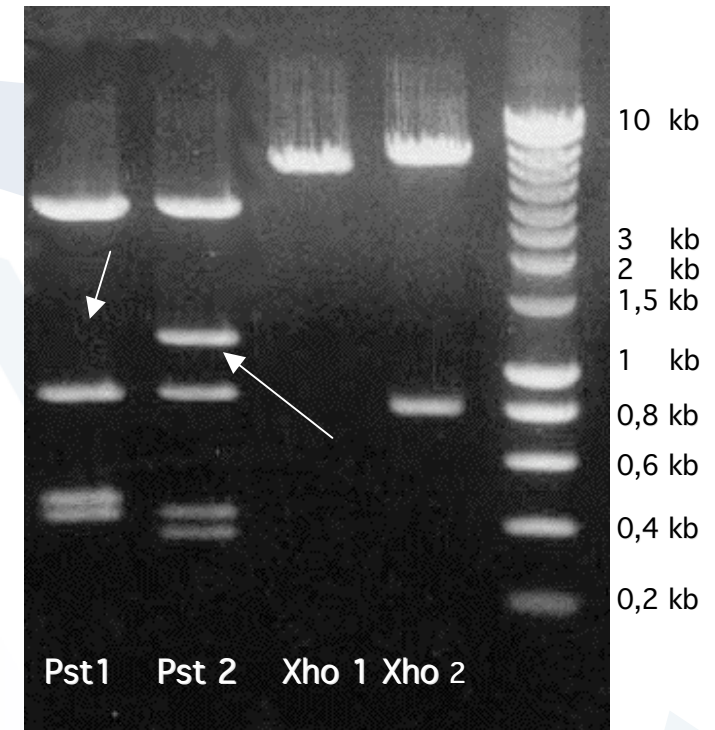
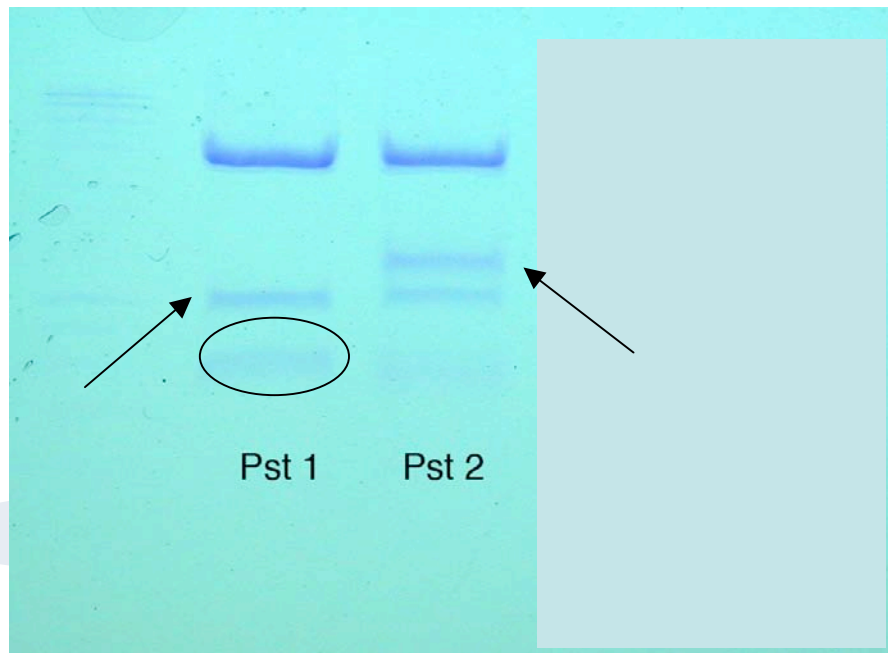
Que peut on conclure sur l'ADN 1? quel est l'intérêt d'utiliser deux enzymes?

Ce type de problématique peut être appliqué dans le cadre d'un diagnostic pré-natal.

L'analyse des résultats se fait de façon similaire à ce qui est décrit précédemment, l'intérêt de deux enzymes se justifie par le contrôle des résultats afin de réellement confirmer une anomalie génétique.

Il s'agit tout de même d'un diagnostic médical.

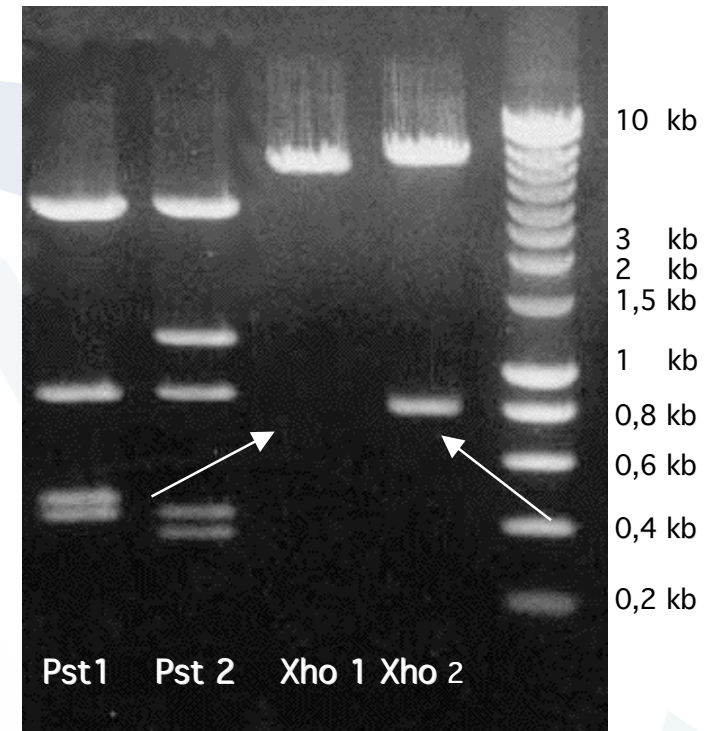
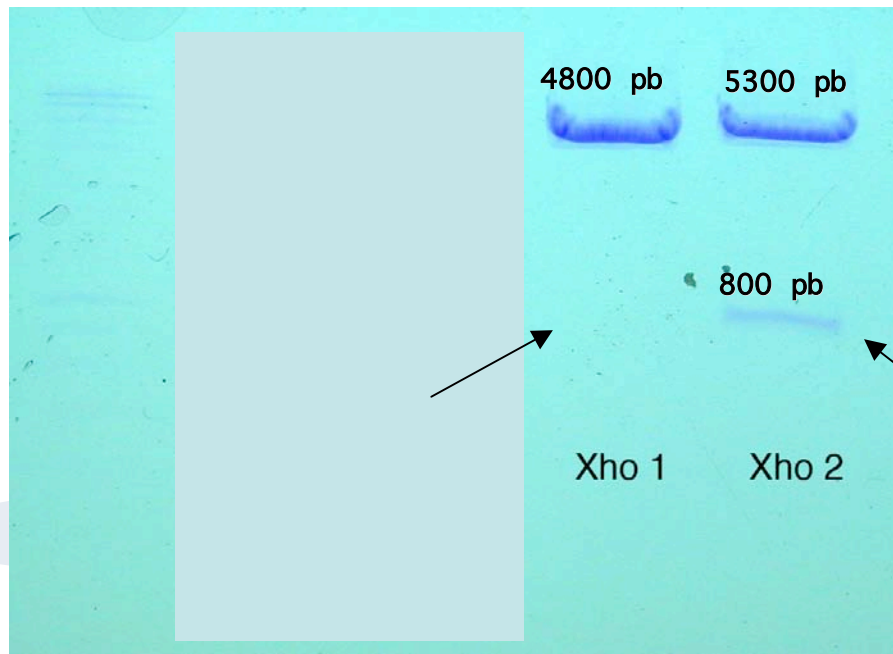




Comparaison de l'ADN 1 et l'ADN 2 hydrolysés par **Pst I**:

L'ADN 2 (ADN de référence) présente cinq fragments visibles, par contre chez l'ADN 1 il manque un fragment ( attention: deux fragments très proches par leur taille se confondent, voir la bulle)

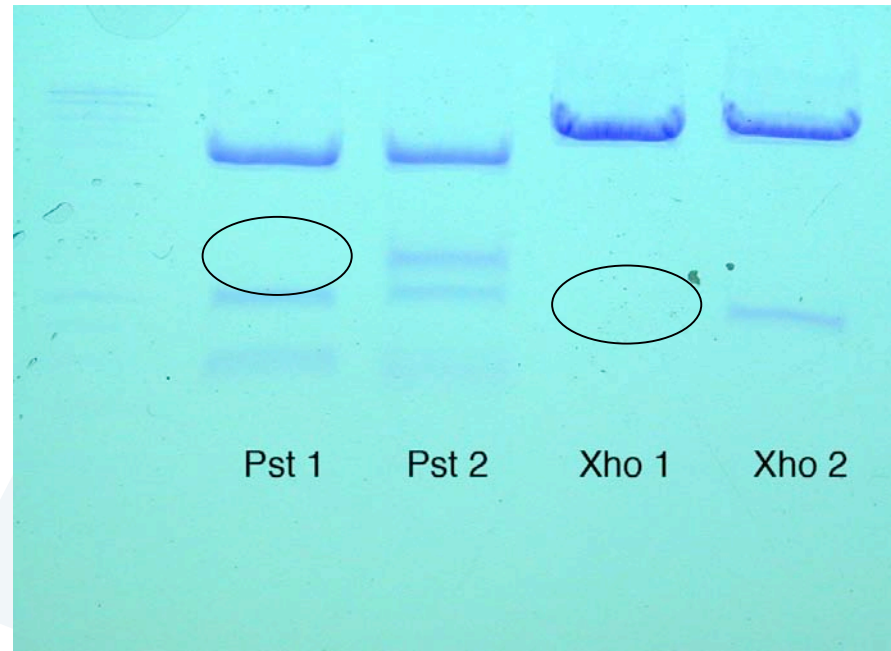
**Bilan: L'ADN 1 est délété d'un fragment en comparaison directe avec l'ADN2**



Comparaison de l'ADN 1 et l'ADN 2 hydrolysés par **Xho I**:

L'ADN 2 (ADN de référence) présente deux fragments visible, un de 5300 pb et un de 800 pb, par contre chez l'ADN 1 nous avons un seul fragment de 4800 pb. Il manque le fragment de 800 pb (flèches).

Bilan: L'ADN 1 mesure au total 4800 pb tandis que l'ADN 2 mesure 6100 pb ( 5300 pb + 800 pb). Nous pouvons conclure que l'ADN 1 est porteur d'une délétion de 1300 pb (ADN 2 - ADN 1  $\Rightarrow$  6100 pb - 4800 pb = 1300 pb )



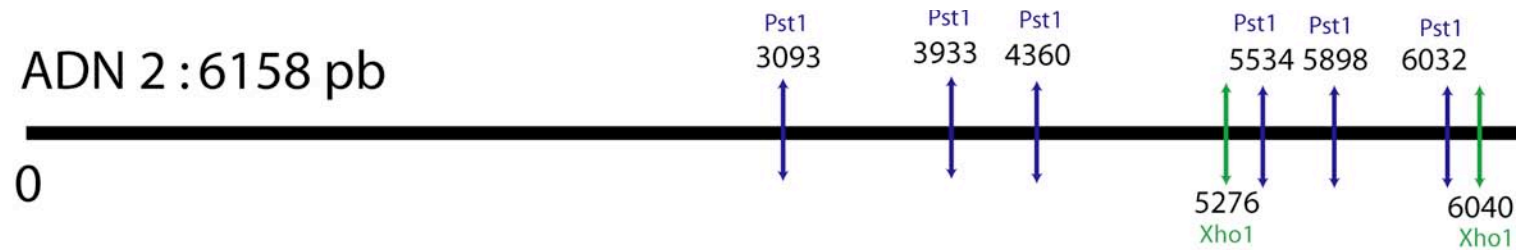
**Conclusion:**

L'ADN 1 présente une délétion par rapport à l'ADN 2 (ADN de référence). Les fragments délétés ne présentent pas le même profil de migration car deux enzymes différentes, avec des sites de restrictions spécifiques, sont utilisées.

L'intérêt des deux enzymes et de contrôler les résultats de l'une par rapport à l'autre. L'apparence des résultats est différente, la conclusion est cohérente dans les deux cas. En diagnostic médical c'est une validation de résultats.

Au final, nous pouvons dire que l'anomalie génétique sur l'ADN 1 est diagnostiquée par une délétion de 1300 pb.

## Cartes de restriction de l'ADN 1 et de l'ADN 2



↑ sites de restriction  
Xho1

↑ sites de restriction  
Pst1



Exemple d'interprétation plus spécifique en se référant aux cartes de restriction:

Une analyse sur un gel plus résolutif (acrylamide) permet d'observer tous les fragments. Les petits fragments de 100 pb sont difficilement visualisables en coloration au BET et en azure A.

En additionnant la taille des fragments d'ADN pour chaque piste de migration. On constate une différence en les deux ADN de 1300 pb.

Par exemple:

- ADN 1 avec Xho I : deux fragments	4740	pb
	118	pb ( non visible)
Total des deux fragments	<b>4858</b>	<b>pb</b>
- ADN 2 avec Xho I : trois fragments	5158	pb
	800	pb
	118	pb (non visible)
Total des trois fragments	<b>6158</b>	<b>pb</b>

**Taille de la délétion: 1300 pb**

Interprétation analogue avec l'enzyme Pst 1.

Problématique complémentaire: Localiser la délétion de 1300 pb

Pour cela utiliser en parallèle le gel et les cartes de restriction, seule la carte de restriction de l'ADN 2 suffit pour déterminer la zone délétée.

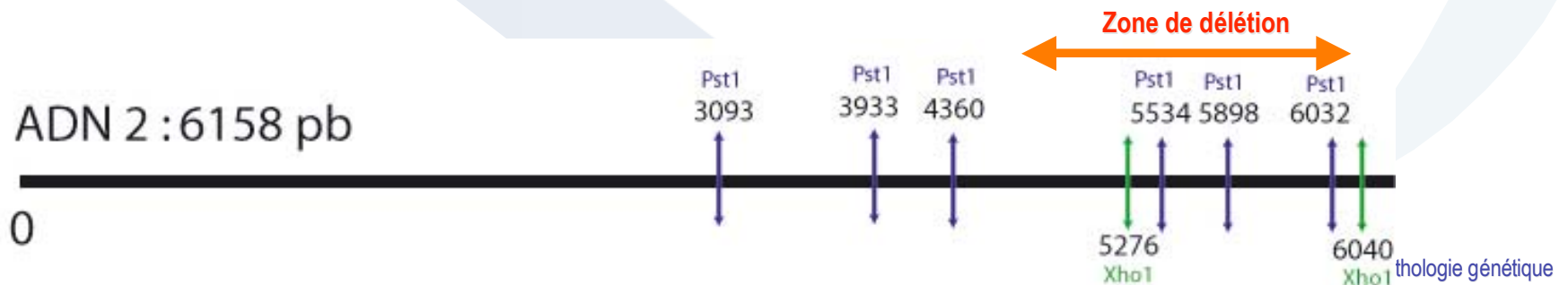
1/ Avec l'enzyme Xho I, il y a un fragment en moins, ce qui permet de conclure qu'il y a **disparition d'un site de restriction de Xho I**.

2/ Le site disparu est celui qui donne le fragment de 800 pb et non celui de 118 pb donc le site disparu est celui de **5276 pb**.

3/ Nous pouvons dire que la **délétion de 1300 pb** s'est produite aux environs de 5276 pb mais nous ne pouvons pas la situer précisément avant ou après.

Si vous souhaitez améliorer la localisation, procédez au même raisonnement avec le profil de restriction de l'enzyme Pst I.

**En conclusion générale, nous pouvons dire que la délétion est située après 4360 pb et finit avant 6040 pb.**



## Empreintes génétiques

Commentaires et analyses des résultats obtenus avec  
le kit DT-03 version empreintes génétiques  
ou le kit DT-06 ADN hydrolysés, empreintes génétiques



En 10 ans, le recours à l'identification biologique des personnes et des traces est devenu incontournable lors des instructions criminelles.

Dans cette expérience l'enzyme Pst I sert à comparer différents ADN. Notamment un ADN issue d'une trace biologique retrouvée sur une scène de crime va être comparé à l'ADN de 3 suspects.

Cette expérimentation fait référence aux toutes premières analyses de polymorphisme génétique humain établies par Sir Alec John Jeffreys dans le milieu des années 80. C'est le début d'une longue histoire des empreintes génétique utilisées en pratique judiciaire.

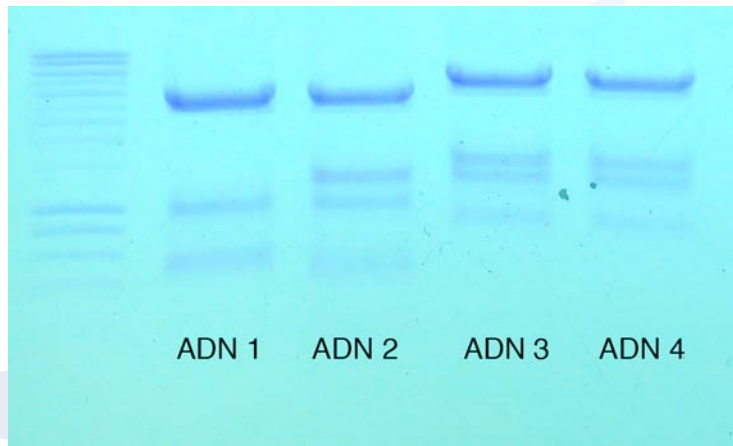
Remarque: Cette méthode (RFLP) bien que valide pour des analyses de polymorphismes, n'est plus utilisée de nos jours en identification humaine elle a été remplacée par la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

#### Attention:

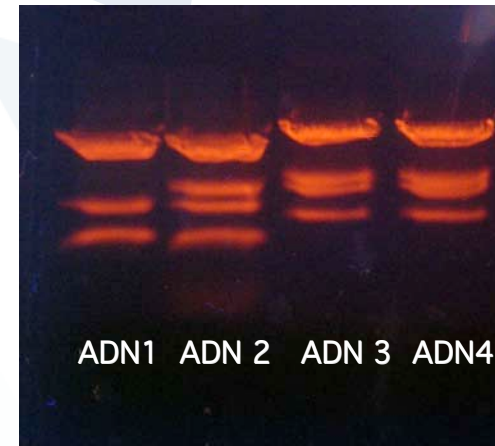
Il est important de rappeler que l'empreinte génétique ne dit rien, ni sur l'intention, ni sur le passage à l'acte. Sa signification ne devient pleine et entière que lorsqu'elle est replacée dans le cadre et les circonstances de l'enquête.

Résultats après hydrolyse ( 45 min à 37°C) et  
électrophorèse sur gel d'agarose à 1%

### Empreintes génétiques



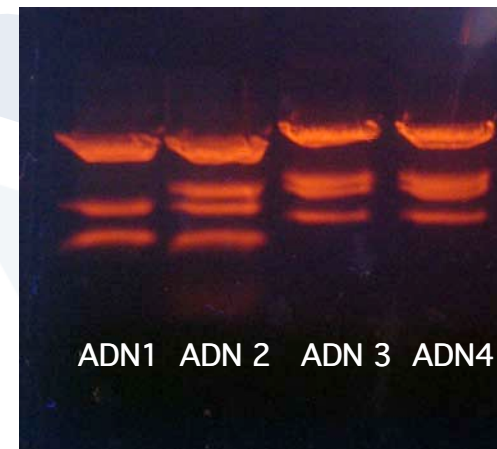
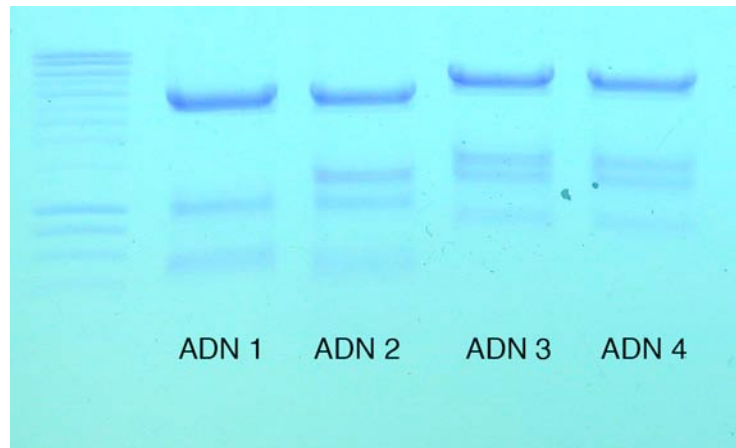
coloration à l'azure A



coloration au BET

Légende: ADN 1: ADN du suspect n°1 hydrolysé par Pst I  
ADN 2: ADN du suspect n°2 hydrolysé par Pst I  
ADN 3: ADN du suspect n°3 hydrolysé par Pst I  
ADN 4: ADN de la **scène de crime** hydrolysé par Pst I

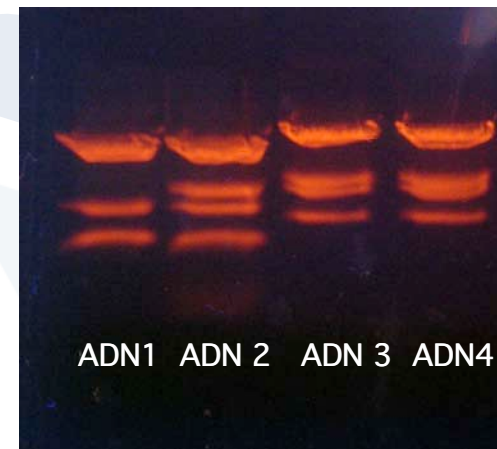
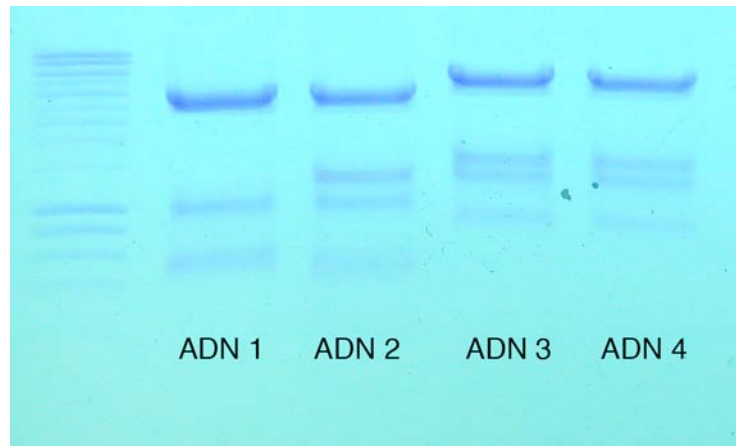




La comparaison est immédiate, le polymorphisme génétique est traduit par la présence de séquences d'ADN spécifiques et uniques chez tous les individus d'une même espèce.

Les profils génétiques avec les fragments sont bien spécifiques de chaque individu. Le profil génétique issue de l'échantillon biologique de la scène de crime, présente les mêmes caractéristiques que le suspect 3. Il est possible de supposer que l'échantillon biologique retrouvé sur la scène de crime provienne du suspect n°3.

Ce suspect a été présent sur la scène de crime cela n'en fait pas nécessairement un coupable.

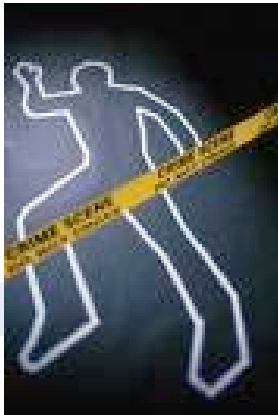


Compte tenu des résultats, il est possible d'exclure les suspects n°1 et n°2.  
Le profil génétique du suspect n°3, mérite une attention toute particulière.

Bien entendu avec si peu de fragments, il n'est pas envisageable de se positionner définitivement sur la valeur probante de concordance avec le suspect n°3. Ces résultats doivent être confirmés avec d'autres enzymes de restriction par exemple, pour observer une discrimination plus élevée.

Dans tous les cas une étude statistique sur la comparaison des profils génétiques issus de traces inconnues et d'individus connus, permettra de signifier la probabilité a priori et a posteriori que la personne suspectée était effectivement à l'origine de la trace retrouvée.

L'école de l'ADN depuis 1998,  
Centre de formation et d'information sur les biotechnologies,



Partenariat et collaborations scientifiques avec le  
Laboratoire d'Empreintes Génétiques (LEG) Marcel Mérieux - Lyon