



Section d'Expertise Génétique

Objectif : Trouver des traces de salive afin d'effectuer un test ADN.

I – Détection de salive

1 – Principe

La salive contient de l'amylase, une enzyme digestive catalysant l'hydrolyse de l'amidon. On se propose d'utiliser cette information pour détecter des traces de salives sur la tasse trouvée en salle préparation.

2 – Protocole

A vous de la définir en vous aidant du matériel suivant : boîte de pétri avec gélose amidonnée, coton-tige de prélèvement, amylase, eau iodée.

Appelez moi pour vérification

3 – Interprétation

–Interprétez vos observations

–Vous consignerez vos résultats dans votre rapport d'expertise. (vous pouvez y inclure des photos)

II – Test génétique

1 – Principe

La salive contient de nombreuses cellules buccales. Or chacune de ces cellules porte la totalité de l'information génétique de l'individu. C'est l'ADN qui est le support de cette information.

On peut donc, après amplification par [PCR](#) puis digestion de l'ADN prélevé au niveau des cellules buccales, établir une carte génétique de l'individu grâce à une électrophorèse.

Principe de l'électrophorèse : L'ADN est une molécule acide, dans les conditions du TP elle sera chargée négativement. Nous allons faire migrer l'ADN digéré par des enzymes de restriction dans un gel d'agarose immergé dans un tampon soumis à un

courant électrique. Dans ces conditions, les molécules d'ADN se dirigent vers le pôle positif (anode) plus ou moins vite en fonction de la taille des fragments. Plus les fragments sont petits plus ils se déplacent rapidement sur le gel.

Pour visualiser l'ADN, on le colore par l'Azure A, après migration.

Les enzymes de restriction : Une enzyme de restriction est une endonucléase qui coupe l'ADN au niveau de séquence précise appelée site de restriction.

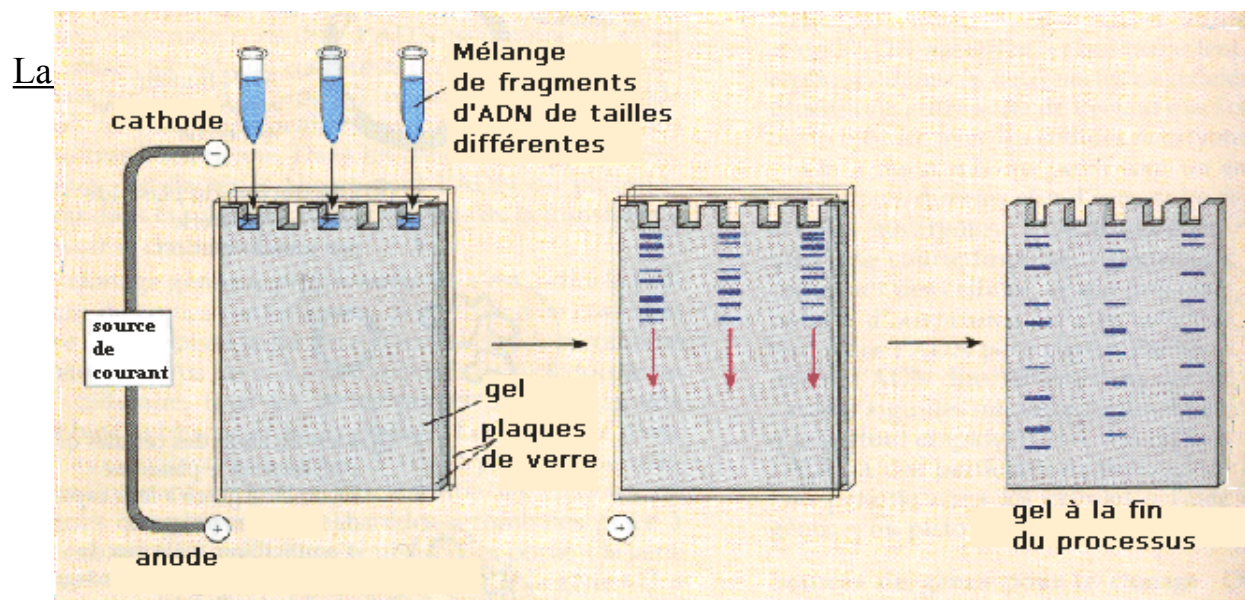
Exemple de sites de restriction pour deux enzymes de restriction : ECOR1 et Hind3

- ECOR1 qui a comme site de restriction GAA **|** TTC
 CTT **|** AAG

- Hind 3 qui a comme site de restriction AAG **|** CTT
 TTC **|** GAA

Une mutation dans une séquence d'un gène peut supprimer ou ajouter un site de coupure pour l'enzyme de restriction et ainsi entraîner la formation d'un segment plus grand ou de deux segments à la place d'un. A la suite de la digestion par une enzyme de restriction, on obtient un « code barre » qui peut varier pour une même espèce en fonction des séquences nucléotidiques.

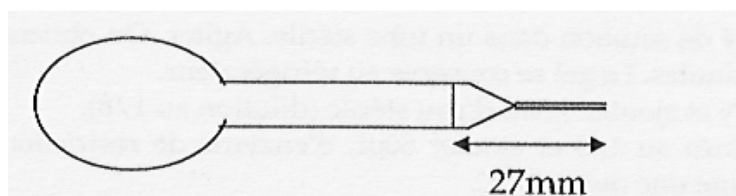
–Comment allez-vous utiliser cette technique pour faire avancer votre enquête ?



technique d'électrophorèse

2 – Protocole

-Effectuer les dépôts : placer une feuille de papier Canson noir sous la cuve afin de bien visualiser les puits. Effectuer les dépôts (10µL de chaque solution : faire une marque à 27 mm du bas de la pasteurette) en stabilisant le mouvement par calage des coudes sur la paillasse. Ne pas percer le fond des puits !!!!!



-Mettre dans les puits :

- puit 1 : ADN d'Ellie BIDEAU
- puit 2 : ADN d'Aude ROCHE
- puit 3 : ADN de Félicie TASSION
- puit 4 : ADN d'Annick ROCHE
- puit 5 : ADN extrait des salives de salive

- La migration doit avoir lieu juste après les dépôts. Brancher la cuve au générateur et faire migrer 45 minutes à 1 heure à 90 volts.
- La migration est terminée lorsque le bleu de dépôt se trouve à 1cm de l'extrémité du gel. Sortir le gel de la cuve délicatement avec les doigts (**mettre des gants**). Le placer dans l'Azure A pendant 5 minutes en agitant légèrement.
- Vider le colorant et le récupérer. Eliminer l'excès de colorant de la surface avec quelques mL d'alcool à 70% pendant quelques secondes. Eliminer l'alcool et rincer à l'eau du robinet plusieurs fois pour éliminer totalement le colorant.
- On voit apparaître les bandes en quelques minutes mais l'intensité maximale de la coloration s'observe au bout de quelques heures.

3 – Interprétations

- A la lecture des résultats, identifiez à qui appartient la salive trouvée sur la tasse.
- Vous consignerez vos résultats dans votre rapport d'expertise. (vous pouvez y inclure des photos)