

TP: Réalisation et exploitation d'une empreinte génétique (typage d'un individu) par STS et PCR

But du TP :

-savoir sélectionner les outils et les techniques pour une analyse génétique via les marqueurs STS

-savoir interpréter et analyser le résultat correspondant

-exploiter l'empreinte génétique pour résoudre un problème génétique

TP: Réalisation et exploitation d'une empreinte génétique (typage d'un individu) par STS et PCR

Partie 1

Stratégies générales pour la réalisation et l'exploitation d'une empreinte génétique par STS et PCR

Partie 2

Application du contenu du TP dans une enquête criminologique

TP: Réalisation d'une empreinte génétique (typage d'un individu) par STS et PCR

Partie 1

Etales de travail :

- sélectionner l'empreinte génétique
- Obtention d'un extrait biologique des individus (suspects, victimes)
- méthodes appliquées dans l'analyse
- obtention du résultat
- interprétation et analyse du résultat
- conclusion

Partie 1

1- Sélection de l'empreinte génétique

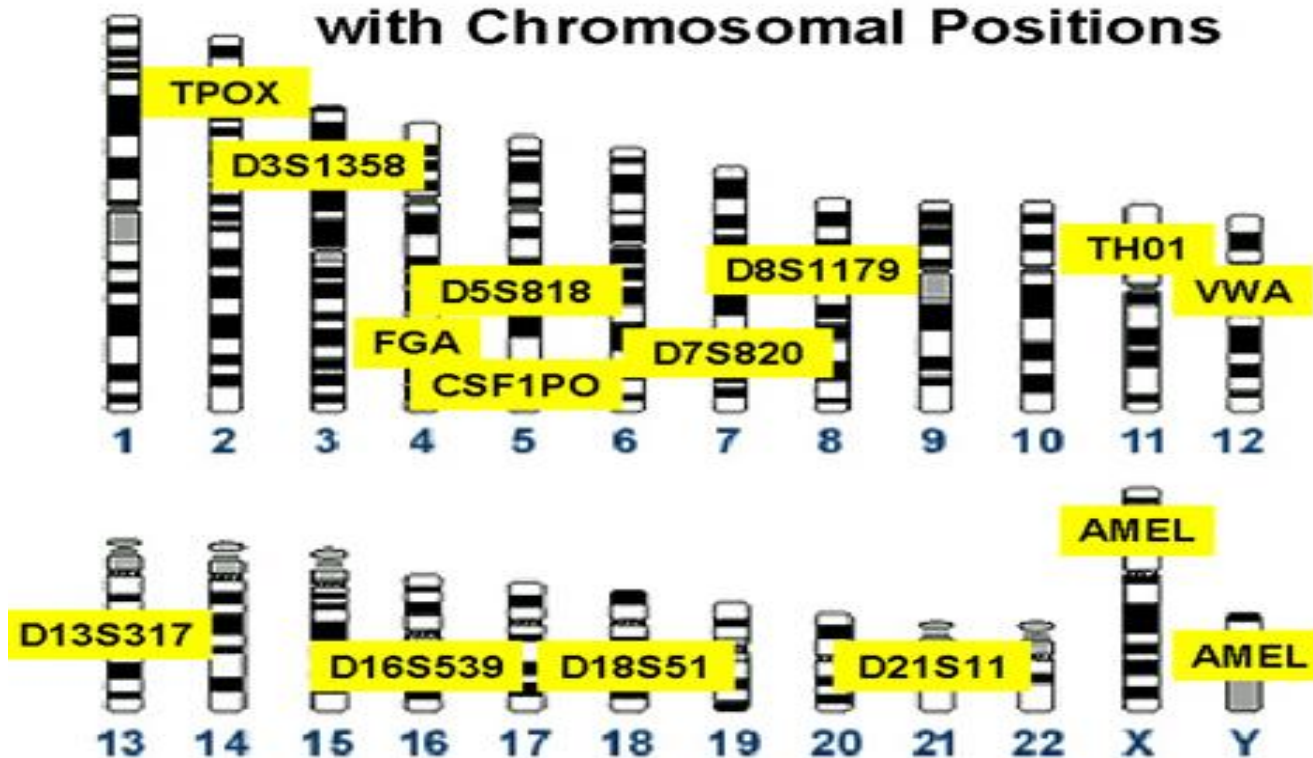


Sélection marqueur génétique (STS)



Choisir 1 ou 2 ou plusieurs ou la totalité

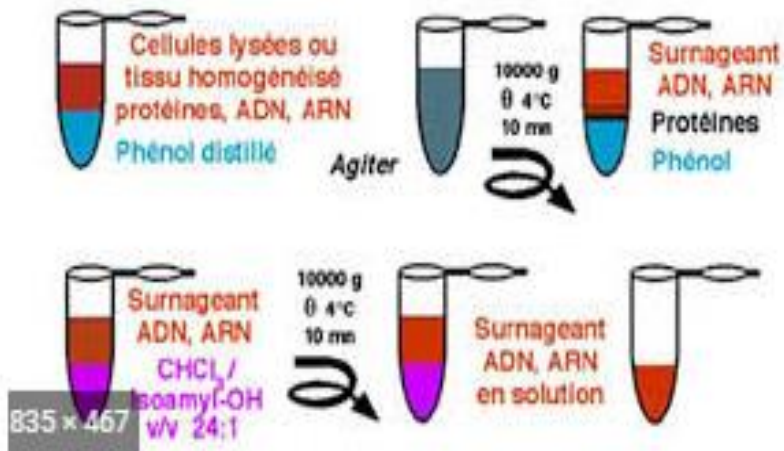
13 CODIS Core STR Loci with Chromosomal Positions



Partie 1

2- Obtention d'un extrait biologique

Extraction de l'ADN (tissu)



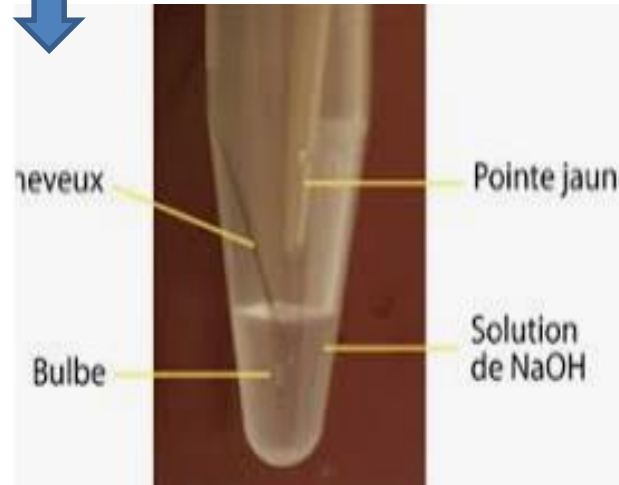
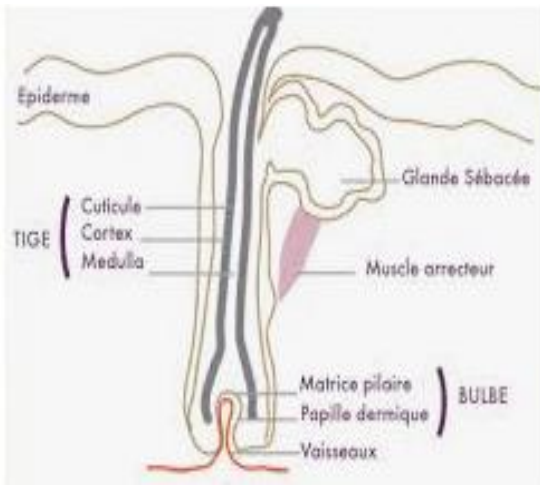
Arcis DNA Prep Kit, 2 step Process. 3 minutes

Add 30µl sample (e.g. blood) to Tube 1
Mix thoroughly
Incubate 1 min at ambient temp

Mix thoroughly
Add 5µl from Tube 2 to PCR Master mix

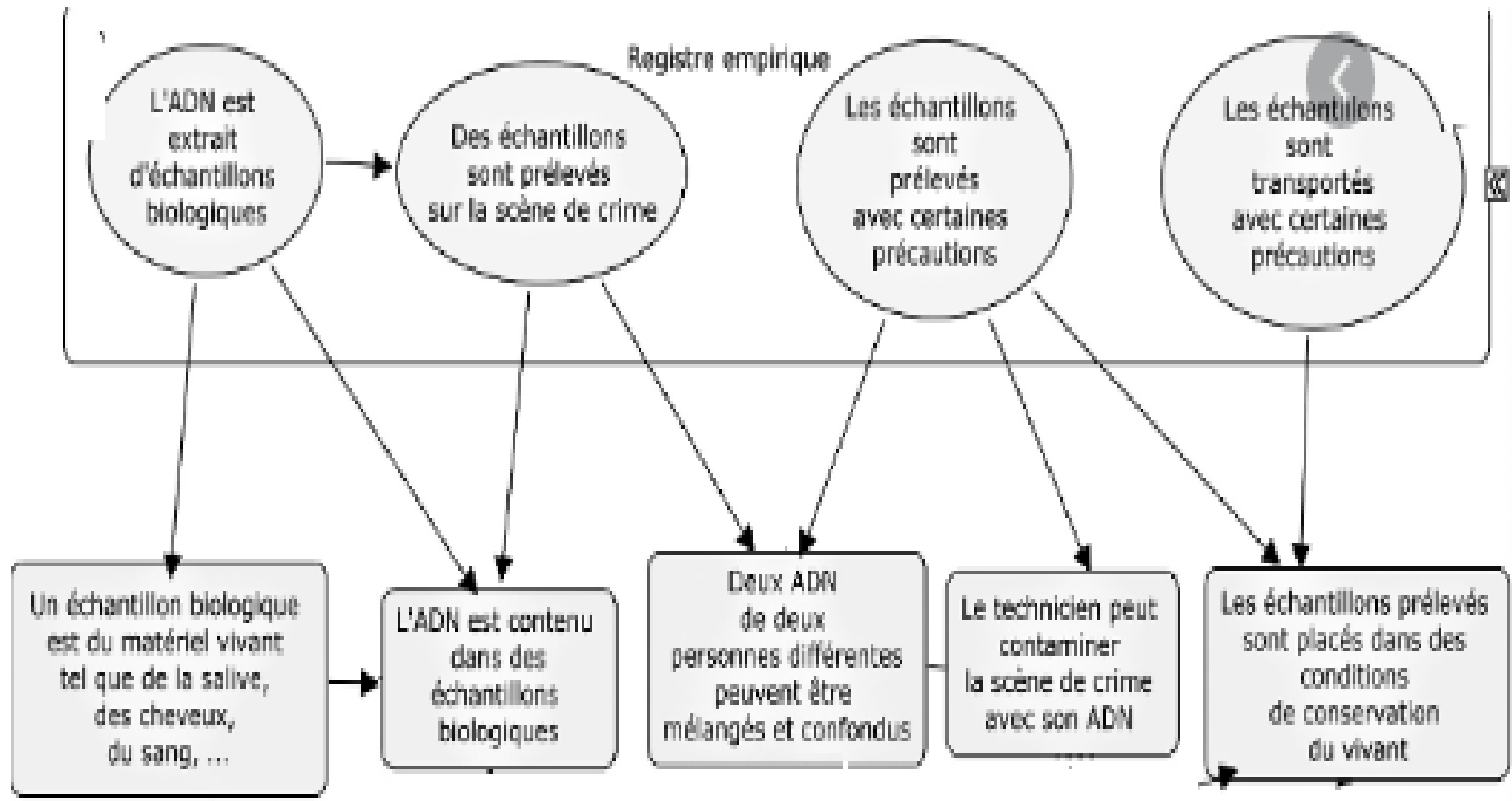


Arcis DNA Prep Kit reduces 5 steps to 2 simple steps



Partie 1

2- Obtention d'un extrait biologique

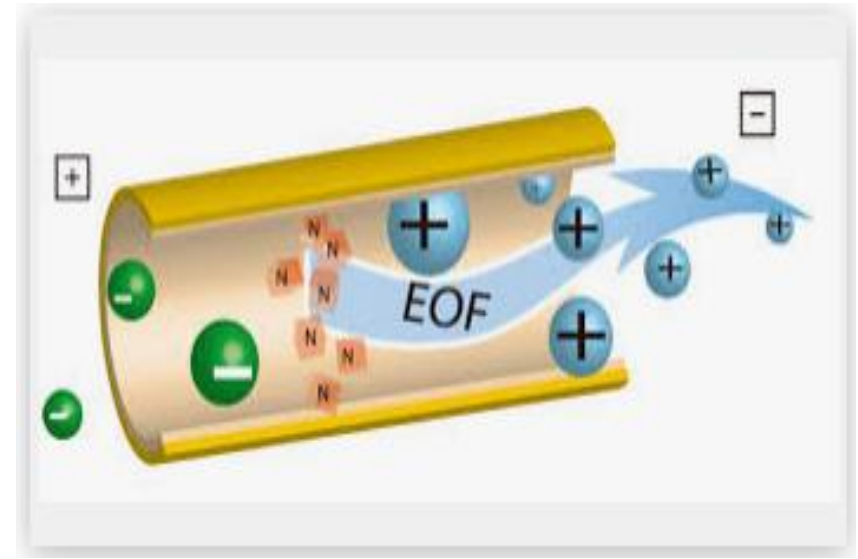
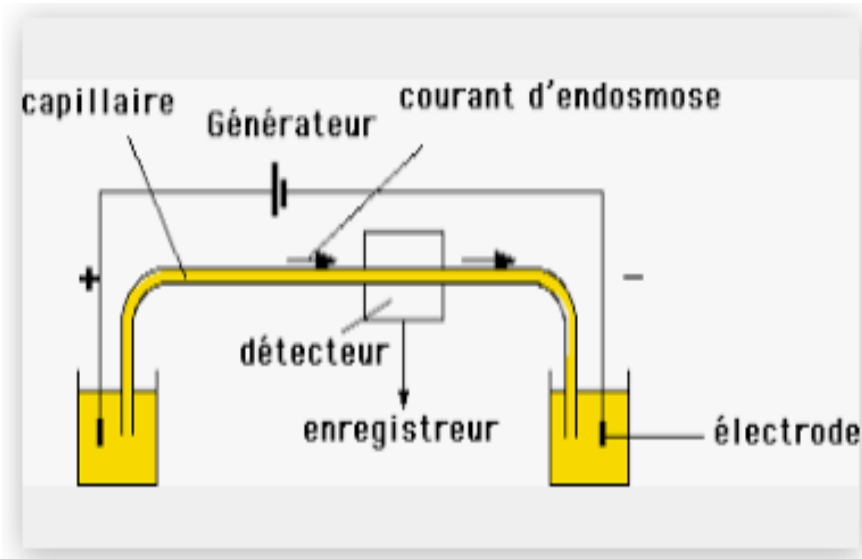


NB: Précautions dans chaque étape

Partie 1

3- méthodes appliquées dans l'analyse Identification par PCR (électrophorèse –classique - capillaire)

Electrophorèse capillaire = technique d'analyse de composés en phase liquide, mise en œuvre sein d'un capillaire de faible diamètre interne (quelques dizaines de micromètres) rempli d'un électrolyte de séparation et requiert l'application d'un champ électrique, séparation des composés en fonction de leur rapport charge sur taille.



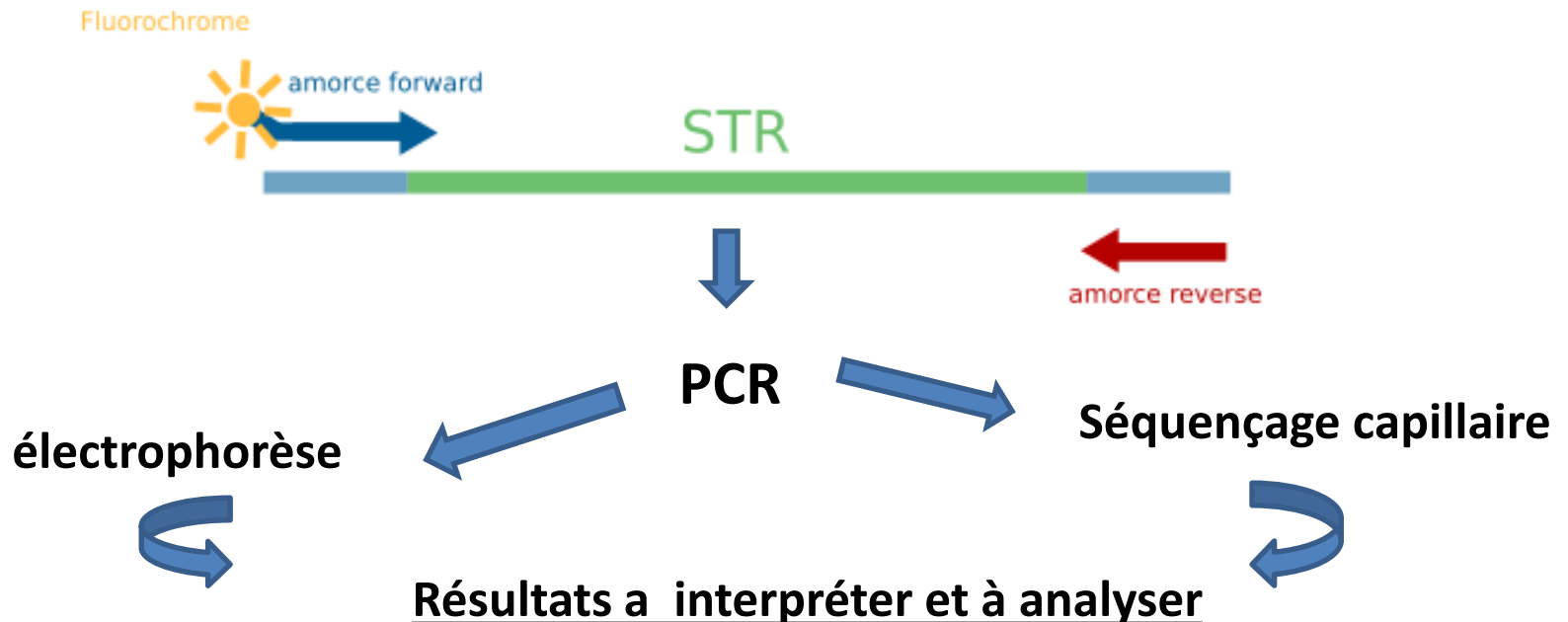
Partie 1

3- méthodes appliquées dans l'analyse

Identification par PCR (électrophorèse)



- Connaitre la taille de chaque STS appliquée dans l'analyse
- Sélectionner les amorces pour chaque STS (un couple d'amorce)
- Une des deux amorces est couplée à un fluorochrome



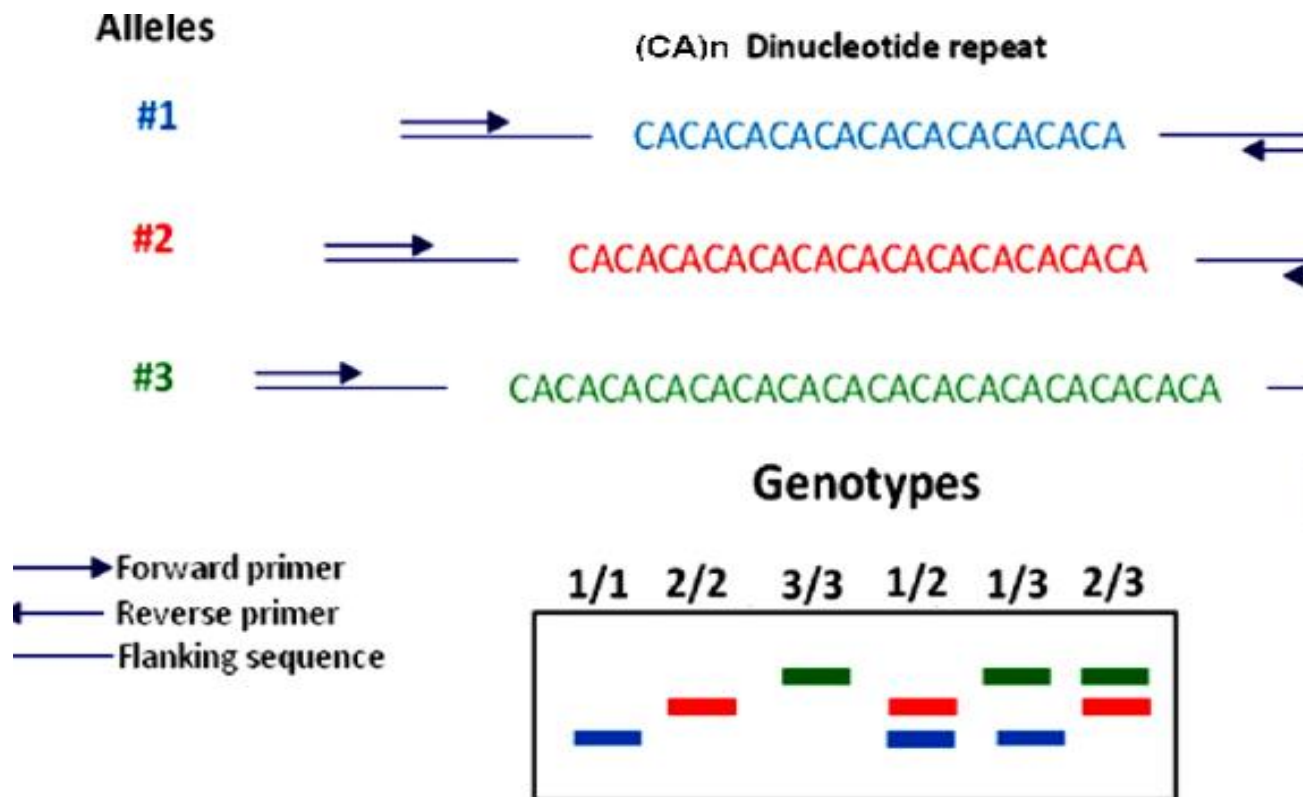
Partie 1

Obtention et interprétation des résultats

cas d'une électrophorèse classique

-obtention des amplicons dont la taille est proportionnelle à celle du STR suivi.

-L'intensité de la bande obtenu est proportionnelle au nombre d'allèles portants le même nombre de répétition



Partie 1

Obtention et interprétation des résultats z (profils génétiques)

Cas d'électrophorèse capillaire (pics)

migration dans un capillaire (plus ou moins vite) et leur temps de passage est mesuré lors de la détection du fluorochrome par un laser

Exemple: si un individu homozygote pour le locus Vwa portant le STS (TCTG) avec 4 répétitions → Génotype de l'individu est : $(TCTG)_4 / (TCTG)_4$



la PCR amplifie des amplicons tous de la même taille



un seul pic est détecté

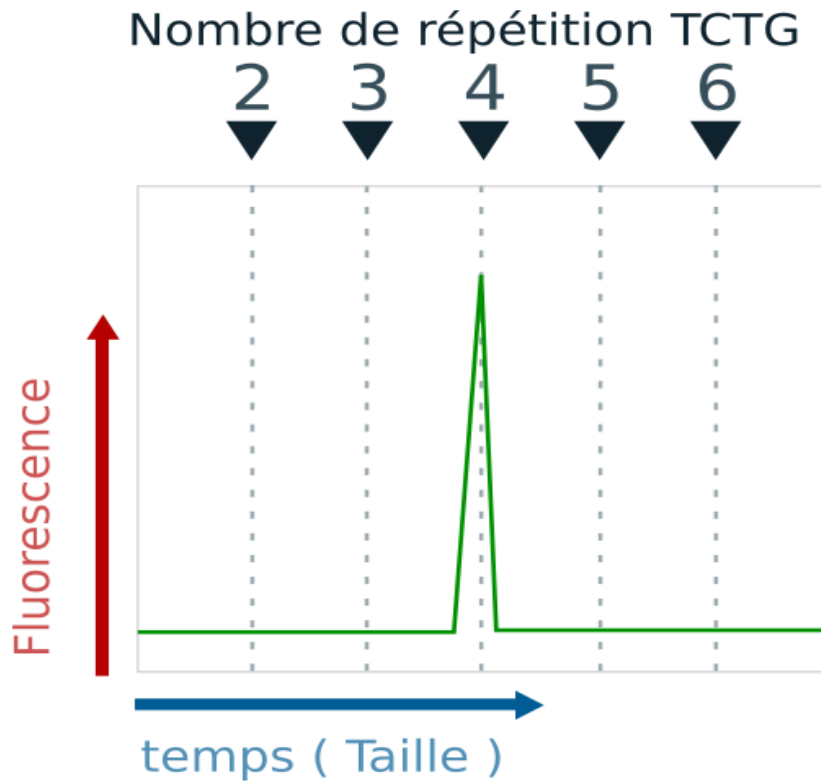
si le patient est hétérozygote avec le génotype suivant : $(TCTG)_4 / (TCTG)_5$, on observe **2 pics et une diminution des amplitudes**

Partie 1

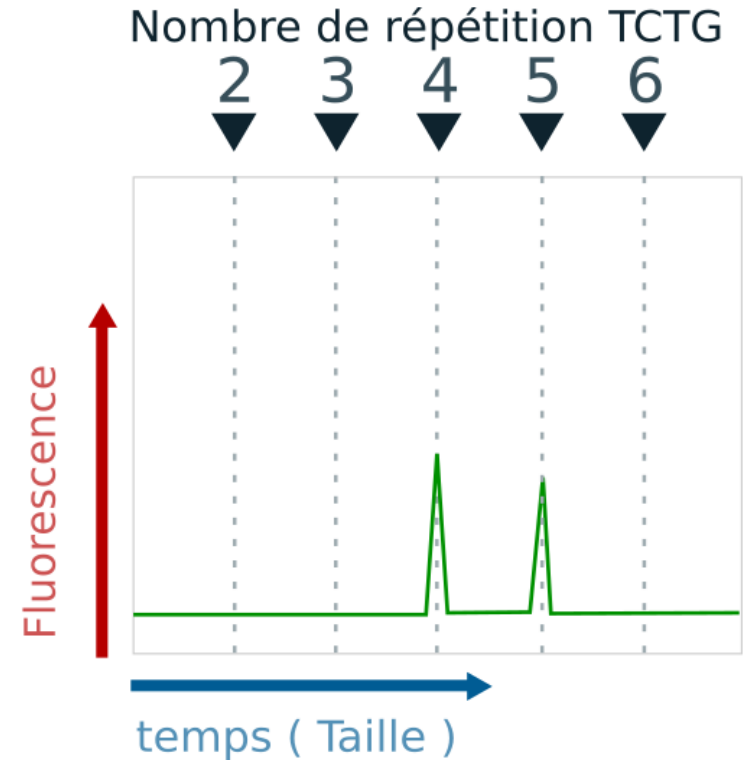
Obtention et interprétation des résultats

Cas du séquenceur capillaire (pics

Cas d'un individu homozygote
 $((TCTG)_4 / (TCTG)_4)$



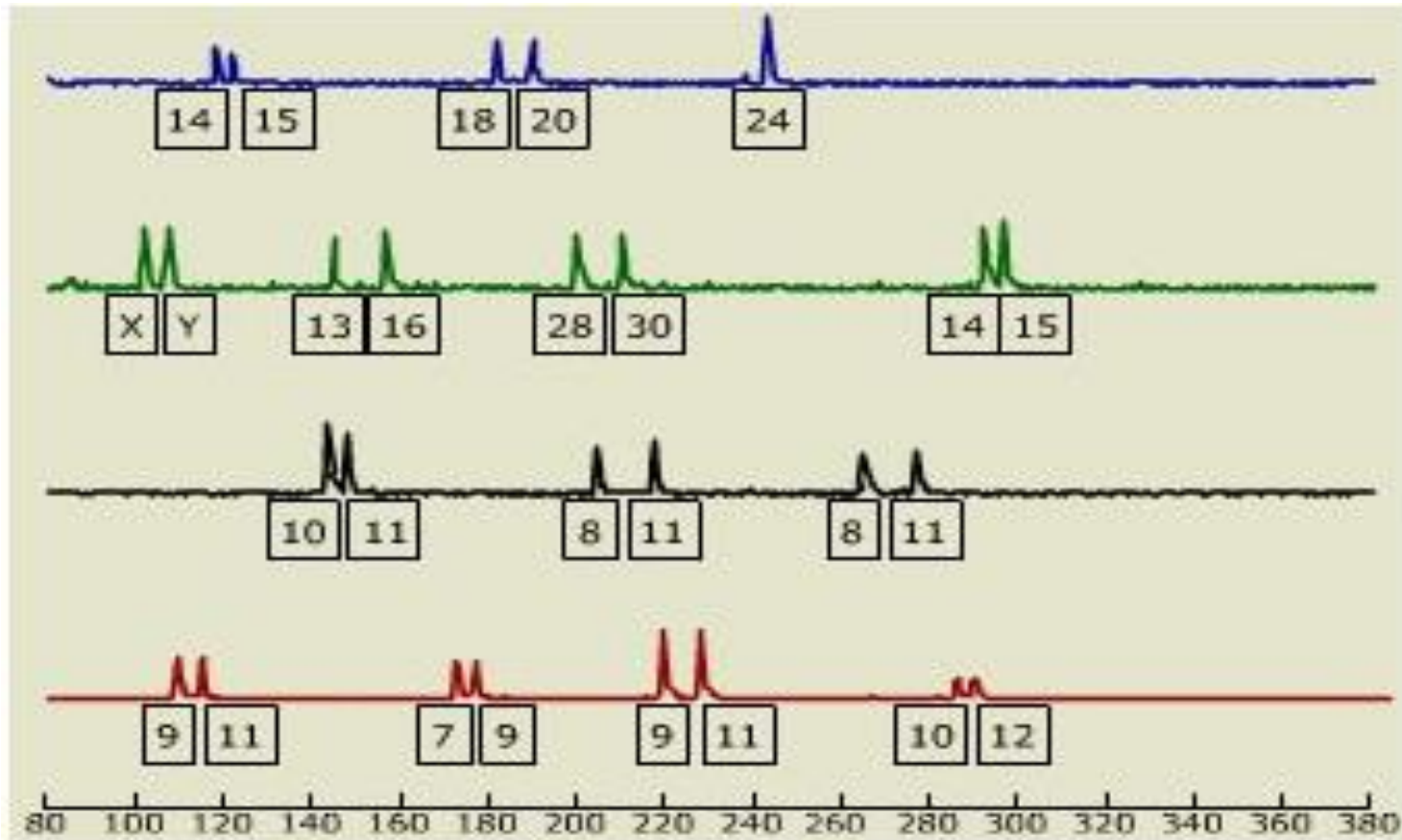
Cas d'un individu hétérozygote
 $((TCTG)_4 / (TCTG)_5)$



profils génétiques

Partie 1

Exemple de profil génétique d'un individu en cas d'une PCR multiplexe  empreinte génétique



Partie 1

Conclusion de l'analyse

discrimination de cette méthode est proportionnel aux nombre de marqueurs appliqués



analyse combinée d'une vingtaine de marqueurs STR autosomaux permet une bonne discrimination



Comparaison du profil obtenu avec un autre ou de référence (suspect, victime, malade) ou ceux existant dans une banque de données



Conclure sur l'identification de l'individu selon son empreinte (profil génétique)

Remarque: La plus ancienne banque de données pour empreinte génétique se trouve en États-Unis depuis 1994 sous le nom de [CODIS](#). Depuis d'autres banques nationales sont construites tel que le fichier national des empreintes génétique construit en France ([FNAEG](#)), depuis 1998 sous le nom de

Partie 2

Application du contenu du TP dans une enquête criminologique:

Le but du travail (TP) : analyser et conclure sur individu suspecté dans un crime

Donnés du problème :

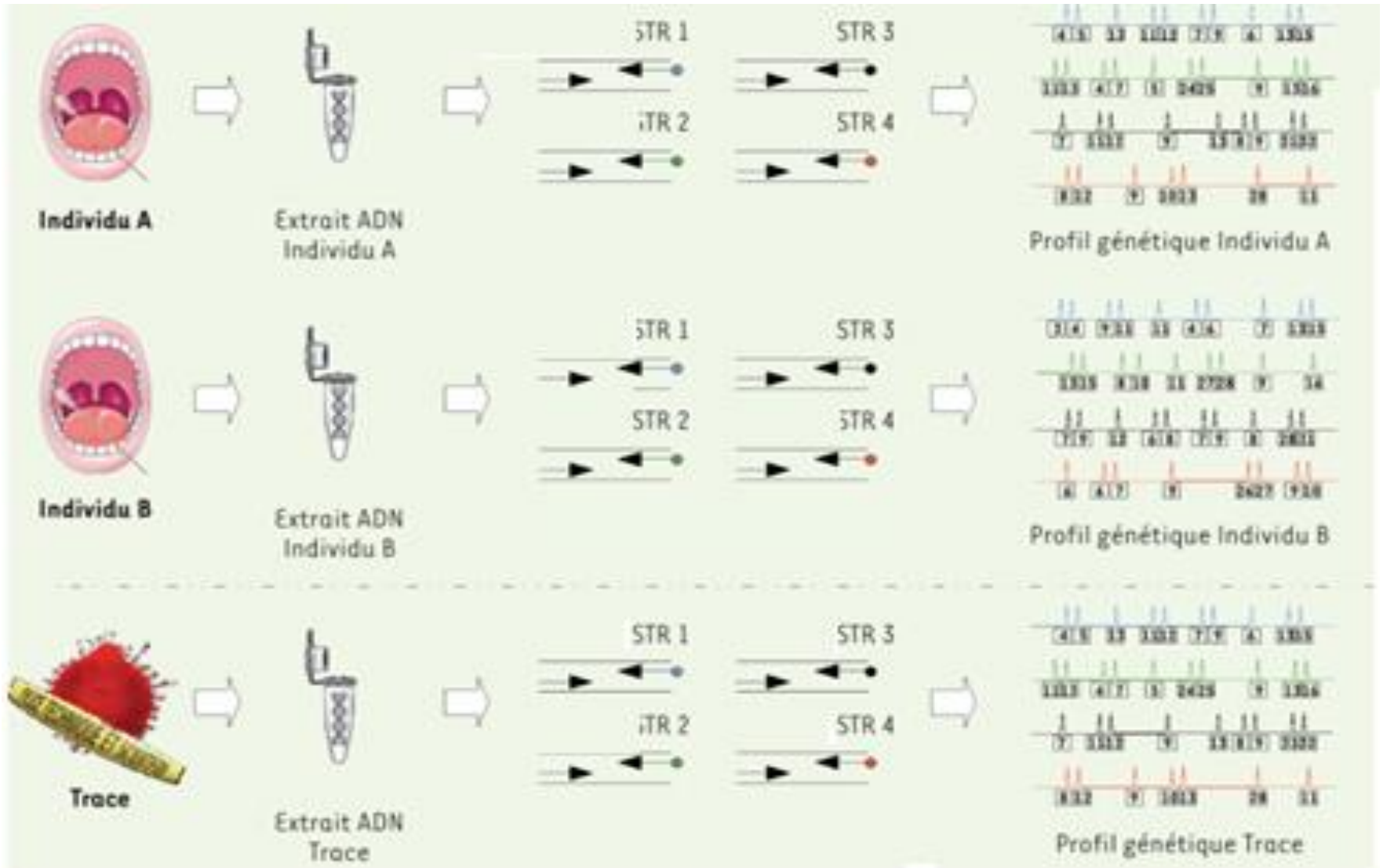
Suite a un crime donné, des traces de sang ont été collectés et l'enquête a conduit sur des soupesons concernant quelques individus.

L'analyse d'une trace de sang, découverte sur la scène de crime, a permis l'établissement du profil génétique suivant, suite a deux types de techniques d'analyse symbolisées successivement par X et Y.

Le Résultat de l'analyse a permis de donner la figure suivante (page suivante)

Partie 2

Résultat obtenu



Interpréter, analyser et conclure sur la personne qui peut être un criminel dans ce cas, par un compte rendu, en se basant sur les pages modèles qu'on vous a donné

Interprétation du résultat

Donnés pour l'analyse génétique

Nom de(s) Technique (s) utilisées?		
Marqueur colorant utilisé?		
Type(s) ou nom du marqueur génétique (s) utilisé (s) ?		
Nombre des marqueurs génétique utilisés?		
origine de prélèvement du matériel génétique pour chaque échantillon?		
Que reflète chacun des pics?		
Quelle est la différence entre un pic et deux pic?		
A quoi correspond le nombre se trouvant sous le pic?		

Analyse des résultats

1-Avec toutes ces données illustrés dans l'énoncé et l'interprétation, sur quel paramètre s'appuie t'on pour analyser ce résultat		
2- existe-il des similitudes entre les individus testés?		
3-si elle existe cette similitude, elle est située entre quel individu et individu ?		
4-a quel niveau exactement?		
5- existe t'il des différences entre les individus testés?		
6- si elle existe cette différence, elle est située entre quel individu et autre ?		
7-a quel niveau exactement?		

Remarque: la réponse aux questions posées sera donné sous forme d'un compte rendu par groupe de 8 en remplissant le formulaire qui vous sera donné sous forme fichier Word

Fin du TP

Merci