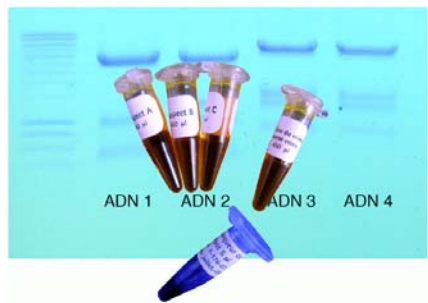


NOTICE TECHNIQUE

1- PRESENTATION

1-1 Principe



g

Tests ADN en criminalistique

Réf. : 117068



Les tests ADN font partie des méthodes de biologie moléculaire couramment employées notamment en criminalistique. Cette technique permet de révéler des marqueurs génétiques, courtes séquences d'ADN qui diffèrent selon les individus, les espèces ou les genres. Ces polymorphismes s'adressent indifféremment à des séquences d'ADN codant ou non codant.

Le polymorphisme de restriction est basé sur la spécificité des enzymes de restriction en matière de reconnaissance d'une courte séquence d'ADN et de l'hydrolyse qu'elles y opèrent. De nombreux marqueurs génétiques dépendent ainsi de la manière dont de petites différences dans une séquence d'ADN peuvent modifier le profil de coupure par des enzymes de restriction.

Les applications sont multiples, cette technique peut être à la fois appliquée dans le cadre de l'identification d'un individu ou de la recherche de filiation. Ces applications sont démocratisées depuis plus de 20 ans en pratique judiciaire tant au civil qu'au pénal et cela permet de mettre en évidence l'universalité du rôle de l'ADN qui est un indice de la parenté des êtres vivants

Ce kit, dans sa conception, propose des ADN hydrolysés qui illustrent l'analyse de polymorphismes au travers des empreintes génétiques. Les premiers profils génétiques dans les années 1980, ont été pratiqués grâce à des endonucléases de restriction.

Ces quatre ADN hydrolysés sont prêts à être déposés sur gel pour être comparés entre eux. L'un d'eux étant une empreinte génétique de référence, à comparer à celles de 3 suspects. Les profils obtenus correspondent exactement, ils sont issus d'ADN hydrolysés

Grâce à cette version simplifiée du kit, l'élève se contente de déposer uniquement les échantillons d'ADN sur gel d'agarose en vue de l'analyse et de l'interprétation des empreintes génétiques en test ADN

Cette approche permet par l'expérimentation et la manipulation de mettre en évidence l'universalité de l'ADN.

Et par la même occasion permet d'approcher la structure de l'ADN et la nature du message codé.

Cette expérimentation est parfaitement adaptée aux programmes d'enseignements au Lycée.

1-2 Méthodologie

Il s'agit de travaux pratiques comportant une phase expérimentale simplifiée, menée directement par l'élève avec des exigences de rigueur, d'habileté et de respect des principes d'hygiène et de sécurité.

Une telle phase pratique se replace dans l'ensemble d'un raisonnement scientifique expérimental.

2- PRESENTATION DU KIT

Ce kit présente des réactifs qui sont prêts à être déposés sur un gel d'agarose 0,6 % à 1, 2% maximum. Les réactifs sont fournis de sorte à réaliser 20 dépôts de 20 μ l pour chaque échantillon.

2-1 Constitution du kit

- ADN du suspect A 450 μ l (ADN1);

- ADN du suspect B 450 μ l (ADN2);
- ADN du suspect C 450 μ l (ADN3);
- ADN lieu du crime 450 μ l (ADN4);
- 1 tube marqueur de taille 50 μ l ;

2-2 Caractéristiques et conseils d'utilisation des réactifs

Tous les réactifs sont directement prêts à l'emploi (**ADN chargé et coloré**) ; Les réactifs doivent être maintenus à 2 – 8°C, conservés à cette température ils ont une stabilité de 4 mois à 2 – 8 °C ou 48 heures s'ils sont maintenus à température ambiante.

- Il est recommandé de ne pas maintenir les réactifs de façon prolongée à température ambiante.
- Ne pas congeler.
- Dans tous les cas se référer aux spécifications de stockage mentionnées sur l'étiquette.

3- PROTOCOLE

3-1 Matériels complémentaires nécessaires au laboratoire (non fournis):

- Micro-pipettes ;
- Cuve à électrophorèse ;
- Appareil photo Polaroid® Gelcam pour biologie moléculaire (option);
- Portoirs pour tubes Eppendorfs® ;

3-2 Consommables

- Embouts pour micro-pipettes 200 μ l ;
- tubes de type Eppendorfs® ;

3-3 Réactifs complémentaires nécessaires

Tous les réactifs nécessaires pour réaliser une électrophorèse en gel d'agarose, de **0,6% à 1,2%**.

[Kit Jeulin réf.105 253 gel d'agarose]

3-4 Opérations préalables aux travaux pratiques

- **Stérilisation du matériel et des réactifs**

Aucune stérilisation ni préparation de matériel spécifique.

- **Préparation des gels d'agarose:**

Il est conseillé de préparer le gel d'agarose pour l'électrophorèse avant la séance de travaux pratiques. Se référer à votre procédure et protocole interne au laboratoire.

- **Préparation des solutions :**

Les solutions sont directement prêtes à l'emploi, il convient à l'enseignant de faire des aliquots de chaque échantillon avant la séance.

4- PREPARATION DE L'EXPERIMENTATION

4-1 Préparation préalable de la séance

Pour chaque poste, préparer des échantillons d'au moins 20 microlitres de chaque ADN et 5 microlitres de marqueur de taille.

- 1 x 20 µl d' ADN du suspect A ;
- 1 x 20 µl d' ADN du suspect B ;
- 1 x 20 µl d' ADN du suspect C ;
- 1 x 20 µl d' ADN lieu du crime ;
- 1 x 5 µl de marqueur de taille ;

4-2 Déroulement de la séance

- **Manipulation par les élèves**

Les élèves déposent directement 20 µl de chaque ADN dans un puits de gel d'agarose traditionnel à 0,6 à 1,2 %. Seulement 5 µl de marqueur de taille suffisent. (10 dépôts maxi, optimisez vos gels en réalisant simultanément

plusieurs séries de suspects pour 1 seul dépôt de marqueurs).

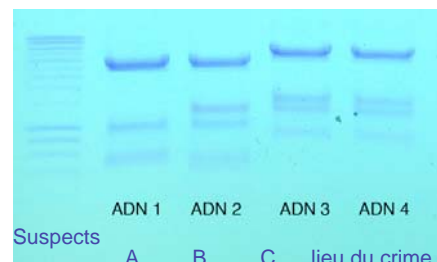
La révélation des fragments d'ADN se fait après une migration à 100 volts pendant 30 minutes ou 135 volts pendant 20 minutes.

Pour la coloration de l'ADN se référer à votre procédure et protocole interne au laboratoire.

Dans le cas de l'utilisation de gels d'agaroses spécifiques se reporter aux spécificités d'utilisation décrites par le fabricant.

Résultats attendus Photo de gel coloré à l'azure A

Résultats des empreintes génétiques



Interprétation des résultats :

Problématique :

Que conclure sachant que ADN 1, ADN 2 et ADN 3 sont des ADN de suspects, A, B, C et l'ADN 4 a été extrait à partir d'un échantillon biologique issu d'une scène de crime.

La place de l'expert en biologie dans une telle procédure

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.

Première observation catégorique :

Les profils génétiques des ADN 1 et 2 sont exclus de l'appartenance à l'échantillon biologique retrouvé sur la scène de crime.

Deuxième observation

Le profil génétique issu de l'échantillon biologique de la scène de crime, présente les mêmes caractéristiques que le suspect C (ADN 3). Il est possible de supposer que ce suspect était présent sur la scène de crime sans pour autant préjuger de sa culpabilité.

Conclusion

Dans ce cas il est préférable de conclure qu'il a été retrouvé sur la scène de crime un échantillon biologique spécifique du suspect C.

Bien entendu ces résultats méritent confirmation, la culpabilité du suspect est soumise uniquement à l'autorité judiciaire dans le cadre d'une instruction diligentée par un officier de police judiciaire.

5- CONSIGNES DE SECURITE

Les réactifs qui constituent ce kit pédagogique ne présentent aucun caractère dangereux, toxique ou pathogène. La fiche de sécurité MSDS est disponible, sur simple demande auprès de l'École de l'ADN.

Au début de chaque formation, il est néanmoins important de sensibiliser les élèves aux risques encourus lors des manipulations :

Se référer aux mesures de sécurité d'utilisation des appareils électriques et matériels ;

Utiliser les précautions d'usage pour toutes manipulations de produits dangereux ou toxiques.

En cas d'ingestion informez le médecin responsable ou contactez le centre antipoison le plus proche.

Précautions spécifiques :

Le port de gants et de la blouse est conseillé.

Mesures d'hygiène : se laver les mains avant et après l'expérimentation ;

Dans le cadre d'une révélation des fragments d'ADN au BET, il est important de veiller à respecter rigoureusement ces recommandations :

- Interdire formellement aux élèves de manipuler le gel d'agarose chargé en BET, (manipulation effectuée par le professeur préalablement formé) ;

- Porter des lunettes de protection en utilisant la table UV ;

- Pour l'élimination du BET chaque établissement doit se référer à sa procédure interne de « traitement des déchets ».

Conception, réalisation, production :
Ecole de l'ADN - 30015 Nîmes,
www.ecole-adn.fr

JEULIN - SUPPORT TECHNIQUE
Rue Jacques Monod
BP 1900

27 019 EVREUX CEDEX France
0825 563 563*

***0,15 € TTC/ min à partir d'un poste fixe**