



RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)

SCIENCES EN TÊTE BIOLOGIE-ANNÉE 2021-2022

La Random Amplified Polymorphic DNA-PCR (RAPD-PCR) est une technique mise au point en 1990 par William et al., McClelland et Welsh, qui contrairement à la PCR, repose sur l'amplification aléatoire de multiples séquences d'ADN. Cette méthode permet notamment de caractériser génétiquement les individus d'une même espèce et d'identifier des maladies héréditaires.^[1]

1. PRINCIPE

La RAPD repose sur l'utilisation d'amorces oligonucléotidiques courtes (environ 10 pb) et synthétisées artificiellement de façon aléatoire.^[2] Cette méthode est réalisée sans connaissance préalable de la séquence d'ADN d'intérêt et aboutit ainsi à des séquences d'ADN polymorphes en amplifiant simultanément différentes parties du génome. Si l'amplification réalisée concerne principalement les régions redondantes du génome, elle s'effectue également au niveau de certaines régions uniques.

Par ailleurs, contrairement à la PCR classique, la RAPD-PCR nécessite la présence d'une seule amorce jouant à la fois le rôle d'amorce sens et antisens.^[1]

La RAPD-PCR se décompose en 4 grandes étapes :

- 1) **Extraction** de l'ADN d'intérêt
- 2) **PCR** de l'ADN avec une unique amorce aléatoire : durant l'amplification, des fragments de différentes longueurs sont générés, aboutissant lors de l'électrophorèse à des modèles de bandes sur gel différents entre chaque individu.
- 3) **Électrophorèse** sur gel des produits de la PCR et **coloration** au bromure d'éthidium
- 4) **Analyse** du polymorphisme obtenu

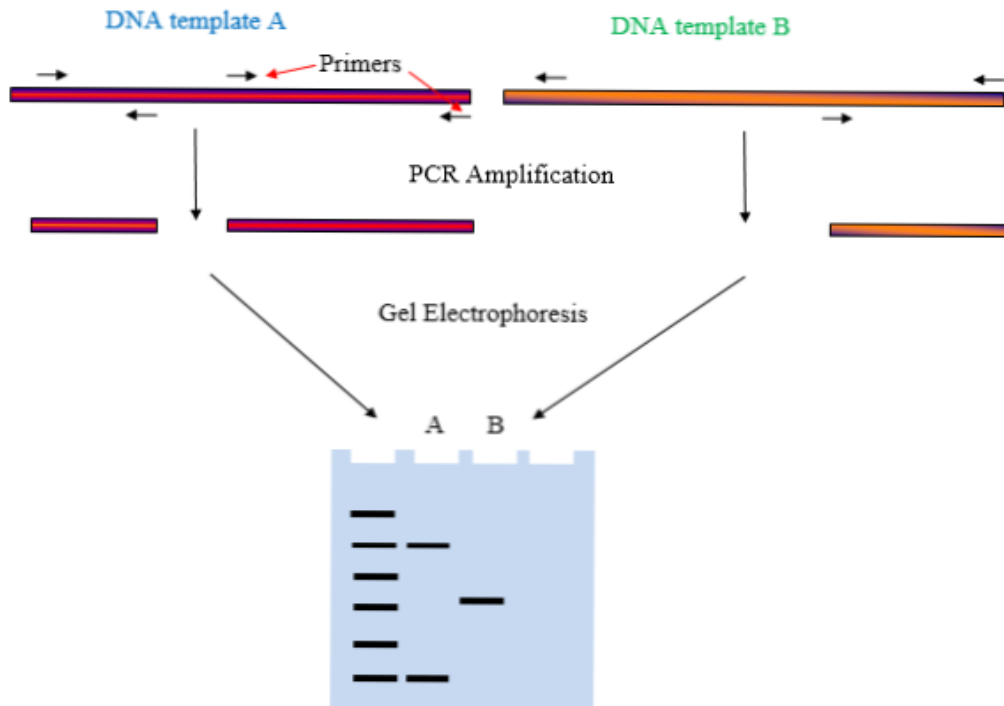


Figure 1 : fonctionnement de la RAPD-PCR^[3]

Le polymorphisme observé peut venir de nombreuses mutations du génome aux conséquences variées :

- **Disparition de fragments d'ADN** : éloignement des sites de fixation de l'amorce.
- **Apparition de fragments supplémentaires**: rapprochement des sites de fixation de l'amorce.
- **Disparition** d'un/plusieurs sites de fixation de l'amorce.
- **Absence des petits fragments d'ADN** sur le gel d'électrophorèse : rapprochement des sites de fixation de l'amorce.

Avantages	Inconvénients
Processus peu cher et rapide. ^[3]	Faible reproductibilité. ^[3]
Forte sensibilité : détection de faibles différences entre des génomes d'une même espèce. ^[1]	Forte sensibilité à la concentration initiale d'ADN lors de la PCR. ^[1]
Obtention d'un nombre important de marqueurs polymorphes. ^[1]	
Échantillons d'ADN de petite taille. ^[3]	



EN SAVOIR PLUS

A partir des fragments RAPD spécifiques d'un groupe d'individus, des outils moléculaires ont été développés afin d'utiliser ces derniers comme marqueurs :

- Pour définir des amorces PCR spécifiques : les fragments sont clonés et séquencés
- Pour tester leur hybridation sur l'ADNg total : les fragments sont purifiés, clonés, puis utilisés en tant que sonde par marquage radioactif.^[1]

SOURCES

[1] https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/doc34-01/010021004.pdf

[2] <http://www.biotech-ecolo.net/diversite-genetique-mesures/marqueurs-moleculaires-PCR.html>

[3] <https://fr.sawakinome.com/articles/molecular-biology/difference-between-rapd-and-rflp.html>