

TECHNIQUES EXPLORATION ADN

<p><u>Electrophorèse</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Elle permet de faire migrer des FRAGMENTS d'ADN ou d'ARN • Gel d'agarose • Séparation selon poids moléculaire PM (ADN chargé - donc va migrer vers l'anode, chargée + !) • Plus les fragments sont petits, plus ils vont migrer loin • Vitesse varie selon PM, voltage, teneur en agarose du gel
<p><u>Méthode de Sanger</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Elle permet de retrouver la séquence d'un brin d'ADN • 1 amorce complémentaire du brin d'ADN en 3' • Synthèse du brin complémentaire par une ADN polymérase • L'ADN polymérase ajoute soit des dNTP, soit des ddNTP fluorescents qui ont la propriété de stopper l'élongation après incorporation • On obtient ainsi différents fragments de tailles différentes • On les sépare par ELECTROPHORESE selon leur PM • Et on lit par ELECTROPHOREGRAMME le dernier ddNTP fluorescent incorporé et ainsi on peut reconstruire la séquence
<p><u>Southern Blot</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Il permet de déterminer la position d'une certaine séquence dans un brin d'ADN • Transfert des différents fragments du brin préalablement fragmentés et séparés par électrophorèse sur une membrane de nitrocellulose • Fixation de l'ADN puis dénaturation • On l'hybride avec la sonde, complémentaire de la séquence recherchée
<p><u>PCR (polymerase chain reaction)</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Elle permet d'amplifier <i>in vitro</i> une séquence PRECISE d'ADN double brin • L'ADN est d'abord <u>dénaturé</u> • 2 amorces complémentaires de chaque brin d'ADN sont <u>hybridées</u> • Puis <u>polymérisation</u> et amplification exponentielle → la séquence cible s'individualise au bout du 3^e cycle

	<ul style="list-style-type: none">• Répétition d'un cycle de 3 étapes : dénaturation, hybridation, élongation• Différentes températures pour les différentes étapes :<ul style="list-style-type: none">✓ Dénaturation ADN à 94°✓ Hybridation amorces entre 50 et 65 °✓ Élongation par les polymérase à 72° <p>Equation de la PCR: $P = N_0(1+E)^n$</p>
--	--

Les informations contenues dans cette fiche ne peuvent en aucun cas faire l'objet de contestation au concours de PACES. Tous droits réservés au TeD.