

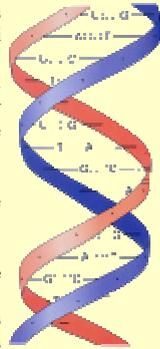


De la mesure de la longueur d'un fragment d'ADN ...

EL BARJRAJI Fattouch, JAZOULI Nawal, NAJAR Mehdi, DE LEENER Anne, MAUEN Sébastien

L'ADN

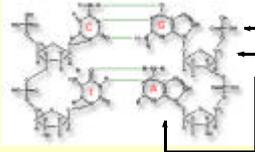
C'est le 25 avril 1953 que deux jeunes chercheurs publièrent un petit article qui allait marquer et bouleverser le monde de la génétique et de la biologie moléculaire. James D. Watson et Francis H. Crick y décrivent la structure de la molécule d'Acide DésoxyriboNucléique (ADN).



L'ADN est essentiellement localisé dans le noyau des cellules et constitue le support de l'information génétique.

La double hélice d'ADN est une grosse molécule formée de deux brins. Chaque brin résulte de l'assemblage de plusieurs nucléotides reliés entre eux par des liens phosphodiester.

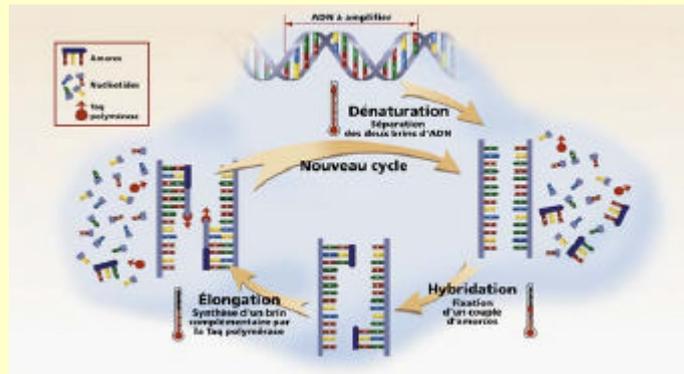
Chaque nucléotide est formé :



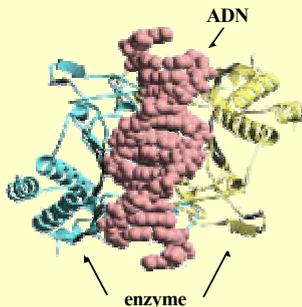
- d'un acide phosphorique
- d'un sucre : le désoxyribose
- d'une base azotée :
adénine (A), guanine (G),
cytosine (C) ou thymine (T)

La PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR est une réaction enzymatique permettant de reproduire un fragment d'ADN donné. Cette réaction permet donc d'obtenir une quantité détectable de ce fragment partir d'une quantité de départ indétectable.



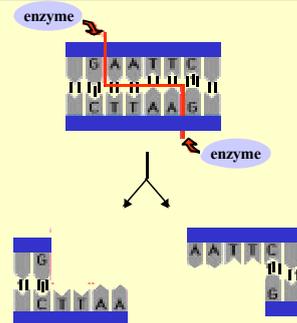
Les enzymes de restriction



Les enzymes de restriction sont des protéines qui se lient à l'ADN au niveau d'une séquence de nucléotides spécifique et coupent l'ADN au niveau de cette séquence.

Les enzymes de restriction appartiennent à la classe des endonucléases, c'est-à-dire des enzymes capables de cliver les liaisons phosphodiester entre deux nucléotides.

L'enzyme de restriction agit comme des ciseaux moléculaires, faisant des coupures dans une séquence spécifique de paires de nucléotides qu'il reconnaît.



L'électrophorèse en gel d'agarose

L'agarose constitue un milieu plus ou moins poreux : plus sa concentration est forte et plus les pores sont petits.

En milieu basique, les fragments d'ADN sont chargés négativement par leur groupement phosphate). Placés dans un champ électrique, ils vont donc se déplacer vers l'anode. C'est leur masse moléculaire qui va régler leur vitesse de déplacement à travers les mailles du gel dans lequel ils ont été placés. Plus les fragments sont petits, plus ils vont migrer rapidement et donc loin de leur point de départ. La vitesse et donc la distance de migration des fragments d'ADN sont inversement proportionnelles au logarithme de leur longueur (exprimée en paires de bases).

Un colorant de charge, le bleu de bromophénol, permet de suivre visuellement l'avancement de la migration.

L'ADN est repéré par fluorescence après avoir été mis en contact avec du bromure d'éthidium. Ce dernier s'intercale dans la double hélice et émet une fluorescence orange lorsqu'il est irradié par des rayons UV.

Afin de déterminer la taille des fragments d'ADN étudiés, un marqueur de taille, constitué de fragments d'ADN de tailles connues, est soumis en même temps que notre ADN à la séparation électrophorétique.

