



## Quelques techniques de biologie moléculaire

Filipa Abrantes, Delphine Deherder et Johan Santamaria avec l'aide de Séverine Steuve

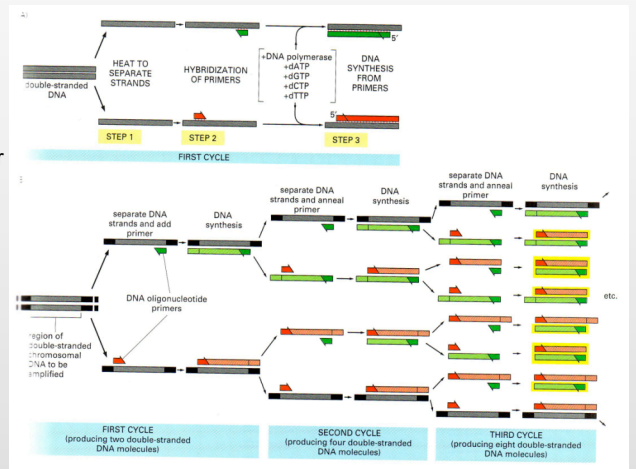
### PCR : polymerase chain reaction

BUT = Amplifier la quantité de matériel génétique pour permettre des analyses.

Au cours de chaque cycle, on porte d'abord la température à 93°C pour dénaturer l'ADN (accessibilité). Ensuite, on refroidit à 58°C pour permettre aux amorces (sens et antisens) de s'hybrider. C'est seulement après ces deux étapes que peut se dérouler l'élongation dans le sens 5' → 3' par une ADN polymérase comme la TAQ à une température de 72°C.

En théorie, il suffit d'une seule molécule d'ADN pour permettre la réaction et ainsi synthétiser assez de molécules pour d'autres analyses comme la restriction.

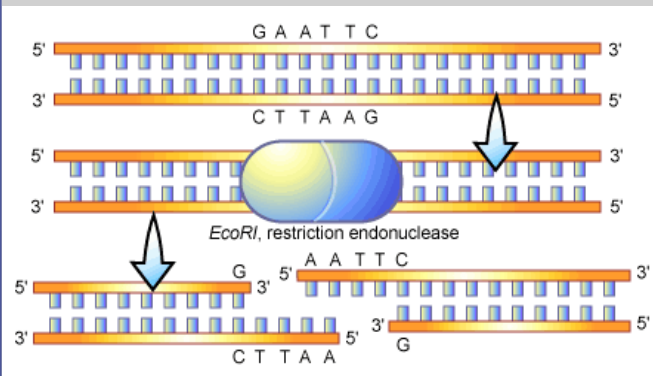
$$\Rightarrow Q_f = Q_i \cdot 2^{n-2}$$



### Restriction

Les enzymes de restriction sont des ciseaux moléculaires clivant des liaisons phospho-diester entre deux nucléotides.

Les sites de coupure sont des séquences dites « palindromes » et peuvent être coupées en extrémités franches ou cohésives.

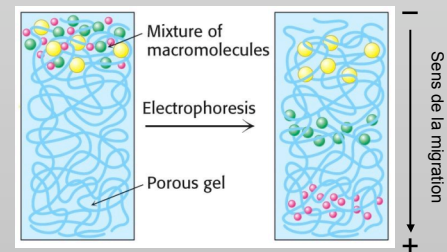


En fonction de la position de ces sites, la restriction va produire des fragments de taille différente. Ces fragments seront ensuite séparés lors d'une électrophorèse.

### Électrophorèse

C'est en fait une migration différentielle dans un gel d'agarose.

Le gel agit comme un tamis moléculaire laissant passer plus facilement les petits fragments.



La force motrice est un champ électrique agissant sur la charge négative des phosphates de l'ADN.

Le bromure d'éthidium est une molécule qui est fluorescente lorsqu'il est irradié par des rayons UV. Sa structure lui permet de s'intercaler entre deux plans formés par les bases de l'ADN.

Après la migration, les fragments peuvent ainsi être révélés et on peut réaliser une photo du gel de migration.