



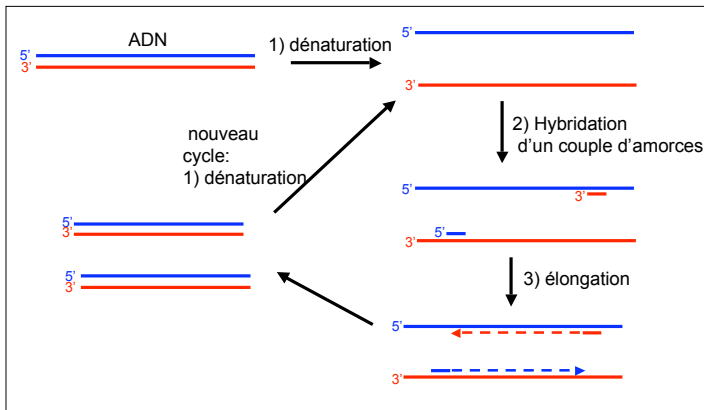
**MUTATIONS ET MALADIES GENETIQUES:**

**Cherchez l'aiguille dans la botte de foin!**

S. BUZIARSIST, G. CHIAPPARO, X. CHOI, H. KADIMA, P. ONGOUROU, A. RZAJEVA  
Sciences biomédicales 3<sup>ème</sup> année

**A la recherche d'une mutation: les techniques de laboratoire**

**La Réaction de Polymérisation en Chaîne (réaction PCR)**



Réaction enzymatique permettant de reproduire un fragment d'ADN donné, grâce à un recopiage en série, in vitro, par une ADN polymérase.

1ère étape: dénaturation de l'ADN double brin  
2ème étape: hybridation des amorces  
3ème étape: élongation par la Taq polymérase

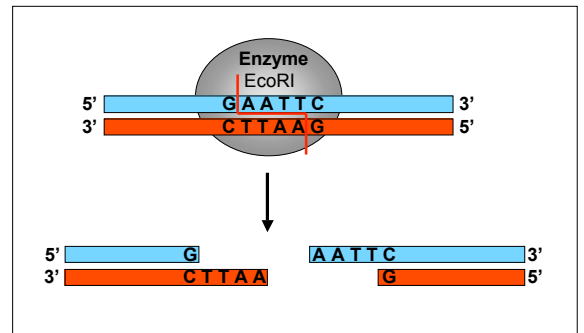
Théoriquement à chaque cycle la quantité d'ADN cible est multipliée par 2. Cette réaction permet ainsi d'obtenir une quantité d'ADN suffisante à partir d'une quantité d'ADN très petite.

**Les enzymes de restriction**

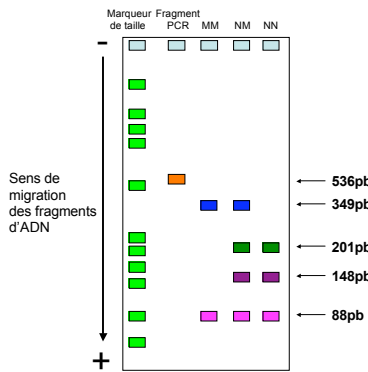
Les enzymes de restriction sont des protéines d'origine bactérienne, qui reconnaissent une séquence de quelques nucléotides spécifique et coupent l'ADN au niveau de cette séquence.

La séquence reconnue est en général palindromique.

Après digestion par un enzyme de restriction, la taille des fragments d'ADN obtenus peut être mesurée par électrophorèse sur gel d'agarose.



**L'électrophorèse en gel d'agarose**



Le gel d'agarose est constitué de pores dont la taille varie en fonction de la concentration.

En milieu basique, les fragments d'ADN sont chargés négativement, ils migrent en fonction de leur taille du pôle négatif vers le pôle positif. Les petits fragments se déplacent plus rapidement que les grands fragments.

La vitesse et donc la distance de migration des fragments d'ADN sont inversement proportionnelles au logarithme de leur longueur.

La taille des fragments d'ADN est déterminée par comparaison avec un marqueur de taille constitué de fragments d'ADN de tailles connues, déposé sur le gel en même temps que les échantillons.

Pour visualiser l'ADN, le gel est mis en présence de bromure d'éthidium, celui s'intercale dans la double hélice d'ADN et émet une fluorescence orange lorsqu'il est irradié par des rayons UV.