

# Cour 01 : ADN : propriétés, extraction, purification et quantification

Dr. Somia MEDJANI

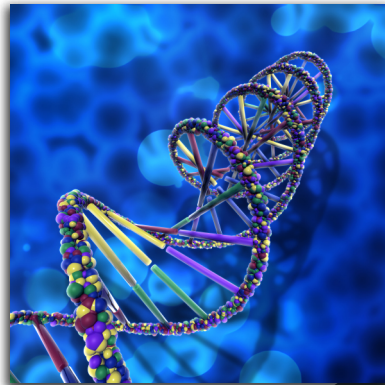
Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologies

Email : medjani.s@centre-univ-mila.dz

1.0 Février 2024



*Centre universitaire Mila*

# Table des matières

<b>Objectifs</b>	<b>4</b>
<b>I - Les prérequis</b>	<b>5</b>
1. les connaissances préalables recommandées : .....	5
<b>II - Test d'entrée</b>	<b>6</b>
1. Exercice .....	6
2. Orientation .....	6
<b>III - les objectifs spécifiques</b>	<b>7</b>
1. les objectifs du cour .....	7
<b>IV - Introduction</b>	<b>8</b>
<b>V - Les propriétés de l'ADN</b>	<b>9</b>
1. Propriétés physiques de l'ADN .....	9
2. Exercice : Avez vous maîtrisé les propriétés de l'ADN.....	10
3. Propriétés chimiques de l'ADN : .....	10
4. Exercice : Avez vous maîtrisé les propriétés de l'ADN.....	10
5. Réplication de l'ADN .....	10
6. Exercice : avez vous maitrisé la replication de l'ADN.....	11
<b>VI - L'extraction de l'ADN</b>	<b>12</b>
1. Extraction d'ADN à partir des végétaux : méthode CTAB .....	12
2. Exercice : Avez vous maîtrisé la méthode d'extraction de l'ADN.....	13
3. Extraction d'ADN à partir du sang humain.....	13
4. Exercice : Avez vous maîtrisé la méthode d'extraction .....	14
<b>VII - La purification et la quantification de l'ADN</b>	<b>15</b>
1. Le dosage de l'ADN par spectrophotométrie.....	15
2. Exercice : avez vous maîtrisé le rôle de la purification.....	15
3. Exercice .....	16
4. Conclusion .....	16
5. Exercice : Tester vos acquis.....	16
<b>Solutions des exercices</b>	<b>18</b>
<b>Glossaire</b>	<b>22</b>

<b>Abréviations</b>	<b>23</b>
<b>Références</b>	<b>24</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>25</b>
<b>Webographie</b>	<b>26</b>

# Objectifs

---



## **Objectifs généraux :**

Ce module vise à :

En termes de connaissances :

- Comprendre comment est utilisée l'information génétique dans la cellule.
- Comprendre le rôle des macromolécules dans les mécanismes de reconnaissance et d'interaction.
- Comprendre les mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire.

En termes de savoir-faire :

- Savoir réaliser des expériences de bases de biologie moléculaire et de biochimie.
- Savoir analyser du contenu cellulaire en ADN, ARN et en protéines.
- Savoir communiquer par écrit de manière claire et structurée.

En termes de savoir-être :

- Être capable d'analyser des résultats d'expériences et les intégrer dans une démarche expérimentale.

# Les prérequis

---



## **1. les connaissances préalables recommandées :**

Pour que l'apprenant soit en mesure de suivre ce cours il doit préalablement avoir des connaissances sur:

- Notion de base sur la biologie cellulaire et biologie moléculaire.
- Notion de base de la biologie générale.

# Test d'entrée

---



## 1. Exercice

[solution n°1 p. 18]

### Exercice

---

Quel pentose est retrouvé dans l'ADN ?

### Exercice

---

Quel pentose est retrouvé dans l'ARN ?

### Exercice

---

Quelles sont les bases azotées retrouvées à la fois dans l'ADN et l'ARN ?

### Exercice

---

De quoi sont constitués tous les nucléotides, monomères des acides nucléiques ?

### Exercice

---

L'acide ribonucléique (RNA) est un acide nucléique bicaténaire ?

- vrai
- faux

## 2. Orientation

Diriger les étudiants vers d'autres ressources pour les aider à atteindre le niveau requis avant de commencer le cours principal peut être extrêmement bénéfique. Cela leur donne une chance de combler leurs lacunes et de renforcer leur compréhension avant de s'engager pleinement dans le programme.



---

En cas d'échec au niveau du test d'entrée, L'étudiant est tenu de consulter les ressources suivantes :

[cf. cour de biomol]

[cf. Une introduction au système d'information]

# les objectifs spécifiques

---



## 1. les objectifs du cour

Ce cours vise à :

- Connaître les propriétés de base de l'ADN.
- Comprendre les différentes méthodes d'extraction de l'ADN.
- Illustrer les étapes de purification de l'ADN.
- Évaluer les connaissance par des exercices.



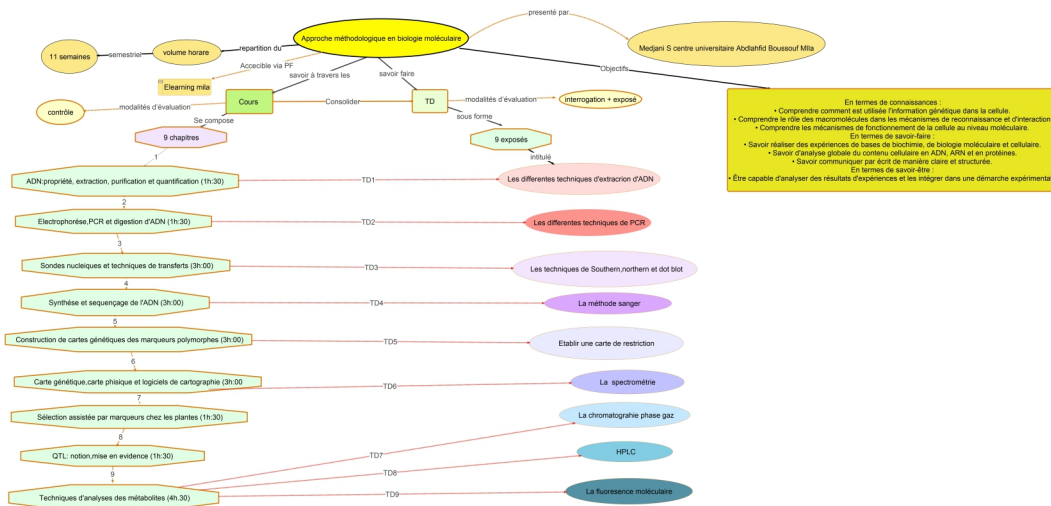
# Introduction

La **biologie moléculaire** (parfois abrégée bio. mol.) est une discipline scientifique de la vie au croisement de la **génétique\***, de la **biochimie métabolique** et de la **physique**, dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire.

Les biologistes moléculaires ont appris à caractériser, isoler et manipuler les composants moléculaires des cellules et des organismes. Ces composants incluent **l'ADN\*** et **l'ARN\***.

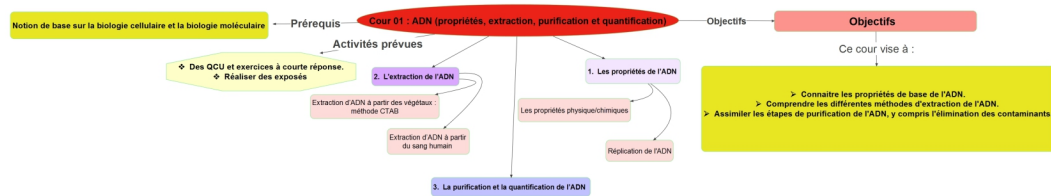
Plus généralement, les techniques de biologie moléculaire sont utiles aux laboratoires de biologie pour accélérer quantitativement et qualitativement le traitement des prélèvements qui leur sont confiés.

La biologie moléculaire analyse, dans les molécules la structure du génome et ses altérations (**mutations\***) ainsi que les mécanismes de l'expression normale et pathologique des gènes.



La carte mentale du module

**L'ADN** joue un rôle central dans la diversité et la **transmission des caractères** génétiques d'une génération à l'autre. Comprendre ses **propriétés physiques et chimiques** est fondamental pour appréhender les mécanismes sous-jacents aux processus biologiques et à la variabilité génétique au sein des organismes vivants.



La carte mentale du cour



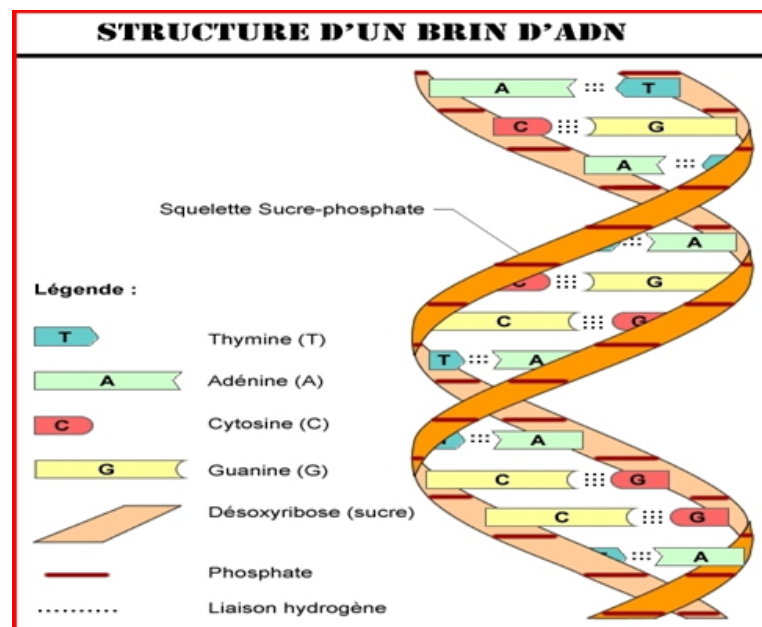
# Les propriétés de l'ADN



*L'ADN « l'acide désoxyribonucléique » est une macromolécule. Il est contenu dans les chromosomes du noyau cellulaire et dans les mitochondries.\**

## 1. Propriétés physiques de l'ADN

- **Structure en double hélice** : Une molécule d'ADN à l'état naturel, c'est-à-dire à l'intérieur d'une cellule vivante, est formée de deux chaînes polynucléotidiques, appariées et enroulées en une spirale, pour former une double hélice, accrochés les uns aux autres par des liaisons phosphodiester.\*
- **Longueur** : L'ADN peut varier en longueur selon les organismes. Dans les cellules humaines, par exemple, l'ADN est étiré et compacté pour s'adapter à l'intérieur du noyau cellulaire.
- **Flexibilité** : L'ADN est une molécule flexible qui peut subir des torsions et des déformations. Cette flexibilité est importante lors des processus cellulaires tels que la réplication et la transcription.
- **Charge négative** : Les phosphates présents dans la structure de l'ADN confèrent une charge négative aux brins, ce qui influence son comportement dans des conditions électriques.
- **Point de fusion** : Le point de fusion est la température à laquelle l'ADN se sépare en brins complémentaires. Cela se produit lors de la dénaturation de la double hélice. Le point de fusion dépend de la composition en bases et de la longueur de la molécule.



*La structure de l'ADN*

## 2. Exercice : Avez vous maîtrisé les propriétés de l'ADN

[solution n°2 p. 18]

Quelle est la structure tridimensionnelle caractéristique de l'ADN?

- Hélice simple
- Structure en zigzag
- Double hélice
- Structure en spirale

## 3. Propriétés chimiques de l'ADN :

- **Composition en bases azotées :** L'ADN est composé de quatre bases azotées : adénine (A), thymine (T), cytosine (C) et guanine (G). Ces bases forment des paires spécifiques (A-T et C-G) dans la double hélice.\*
- **Liaisons hydrogène :** Les paires de bases dans l'ADN sont maintenues ensemble par des liaisons hydrogène entre les bases complémentaires. C'est cette spécificité de liaison qui assure la complémentarité\* entre les brins.
- **Expression génique :** L'ADN est le support de l'information génétique, et son décodage est réalisé par le processus de *transcription*\* suivi de la *traduction*\*. Cela permet la synthèse des protéines nécessaires au fonctionnement cellulaire.
- **Réactivité chimique :** L'ADN peut réagir avec diverses substances chimiques, y compris des agents mutagènes. Les altérations de l'ADN peuvent conduire à des mutations génétiques.\*

## 4. Exercice : Avez vous maîtrisé les propriétés de l'ADN

[solution n°3 p. 19]

Quel élément est responsable de la charge négative des brins d'ADN?

- Phosphore
- Azote
- Carbone
- Hydrogène

## 5. Réplication de l'ADN

**ADN est le porteur de l'information génétique. Il est capable de se répliquer, c'est à dire de se recopier fidèlement.\*** Pendant le processus de réplication, qui consiste en la formation de copies de la molécule d'ADN, la double hélice s'ouvre, les deux chaînes se séparant et servant chacune de matrice pour la création d'une nouvelle chaîne selon **les règles de la complémentarité**.

Le résultat final est la formation de deux doubles hélices, chacune contenant l'un des deux brins originaux (brin « parental ») et un nouveau brin (brin « **néosynthétisé** »). Cette réplication est dite semi-conservative (parce qu'elle conserve l'un des deux brins originaux dans chaque nouvelle copie d'ADN). Elle fut décrite sur des bases exclusivement théoriques comme le mode de réplication le plus adapté étant donné la structure de l'ADN.

*les étapes de la réplication*

Étape	Description
<b>1. Initiation</b>	Formation d'une origine de réplication avec des protéines qui reconnaissent et se lient à la séquence d'ADN.
<b>2. Déroulement</b>	Déroulement de la double hélice par une enzyme appelée hélicase, formant ainsi des fourches de réplication.
<b>3. Synthèse des amorces</b>	Synthèse de courtes amorces d'ARN par une enzyme appelée primase. Ces amorces permettent le démarrage de la synthèse d'ADN.
<b>4. Synthèse des brins en continu et en discontinu</b>	Synthèse du brin continu (brin avancé) dans la direction 5' vers 3' par ADN polymérase. Synthèse du brin discontinu (brin retardé) sous forme d'Okazaki.
<b>5. Élongation</b>	Ajout de nucléotides complémentaires à chaque brin en utilisant l'ADN polymérase.
<b>6. Liaison des fragments</b>	Liaison des fragments d'Okazaki par une enzyme appelée ligase.
<b>7. Vérification et correction</b>	L'ADN polymérase vérifie l'exactitude de la nouvelle séquence d'ADN et effectue des corrections au besoin.
<b>8. Terminaison</b>	Arrêt de la réplication une fois que l'ensemble du génome a été copié.

**6. Exercice : avez vous maîtrisé la réplication de l'ADN**

[solution n°4 p. 19]

Quel est le rôle de l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN?

- Séparation des brins d'ADN
- Synthèse de nouveaux brins d'ADN
- Appariement des amorces
- Détermination de la séquence génétique

# L'extraction de l'ADN



**L'extraction de l'ADN** est une technique permettant d'isoler l'ADN des cellules ou des tissus.

*L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire telles que le séquençage\*, la PCR ou le clonage\*.\**

Il existe différents protocoles pour extraire l'ADN, qui suivent approximativement le même schéma de principe :

- La collecte et le stockage de tissus
- La lyse des cellules
- Élimination des protéines et la solubilisation des lipides avec des détergents
- La séparation de l'ADN des autres molécules et élimination des autres acides nucléiques (ARN).
- La purification de l'ADN séparé
- La suspension dans un tampon approprié

## 1. Extraction d'ADN à partir des végétaux : méthode CTAB

L'une des méthodes les plus utilisées chez les végétaux est dite la méthode **CTAB** (par rapport au composant principal du tampon de lyse qui est le bromure de cétyle-triméthyle-ammonium (**Cetyl-Trimethyl-Ammonium Bromide**)). Le CTAB solubilise les membranes et les complexes avec l'ADN.

Cette méthode a été décrite en 1980, et elle reste populaire du fait que tous les composants peuvent être préparés au laboratoire et donc le coût par échantillon reste faible.

Des cellules végétales peuvent être lysées en utilisant le détergent ionique cétyletriméthyle ammonium bromure (**CTAB**), qui forme un complexe insoluble avec les acides nucléiques dans un environnement à faible teneur en sels. Dans ces conditions, les polysaccharides, les composés phénoliques et les autres contaminants restent dans le liquide surnageant et peuvent être lavés. Le complexe d'ADN est **solubilisé** en élevant la concentration en sels et précipité avec de l'éthanol ou de l'isopropanol. Les principes des trois principales étapes, à savoir la lyse de la membrane cellulaire, l'extraction de l'ADN génomique et sa précipitation sont décrits ultérieurement.

**Lyse de la membrane cellulaire :** comme il a été mentionné précédemment, la première étape de l'extraction d'ADN est la rupture de la cellule et de la membrane nucléaire. L'échantillon homogénéisé est tout d'abord traité avec le tampon d'extraction contenant de **l'EDTA, du Tris/HCl** et du **CTAB**. Toutes les membranes biologiques ont une structure générale commune comprenant des molécules de lipide et de protéines maintenues ensemble par des interactions non covalentes.

**L'extraction :** dans cette phase, les polysaccharides, les composés phénoliques, les protéines et les autres lysats cellulaires dissous dans la solution aqueuse sont séparés du complexe **acide nucléique / CTAB**.

L'élimination des polysaccharides, ainsi que des composés phénoliques est particulièrement importante en raison de leur capacité à inhiber un grand nombre de réactions enzymatiques. Dans une concentration à faible teneur en sels (< 0,5 M NaCl), les contaminants du complexe d'acide nucléique ne précipitent pas et peuvent être enlevés par l'extraction hors de la solution aqueuse au moyen de chloroforme. Ce dernier dénature les protéines et facilite la séparation des phases aqueuses et organiques.

L'acide nucléique aura, en outre, tendance à se dissoudre dans la phase organique si le pH de la solution aqueuse n'a pas été équilibré comme il se doit à une valeur de pH comprise entre 7,8 et 8,0. Au besoin, l'extraction au chloroforme est répétée deux ou trois fois afin d'enlever complètement les impuretés de la couche aqueuse. Une fois que le complexe d'acide nucléique a été purifié, la dernière étape de la procédure peut être accomplie.

**Précipitation :** à ce stade final, l'ADN génomique est libéré du détergent. À cette fin, la solution aqueuse est tout d'abord traitée à l'aide d'une solution de précipitation composée d'un mélange de CTAB et de NaCl à concentration élevée (> 0,8 M NaCl). Le sel est indispensable à la formation d'un précipité d'acide nucléique.

L'acétate de sodium peut être préféré au NaCl pour sa capacité de tamponnage. Dans ces conditions, le détergent, qui est plus soluble dans l'alcool que dans l'eau, peut être élué, tandis que l'acide nucléique (ADN) précipite. Le traitement successif par 70% d'éthanol permet une purification ou élution supplémentaire des sels résiduels.

Au cours des dernières décennies, des kits commerciaux pour l'extraction rapide à partir de matériel végétal sont devenus d'une utilisation routinière.

**Les kits commerciaux** se sont révélés être très fiables dans la production de rendements élevés de l'ADN hautement purifié, et ainsi sont devenus la norme lors de la réalisation des dosages moléculaires sensibles. Ces kits restent trop chères par rapport aux méthodes anciennes.

## 2. Exercice : Avez vous maîtrisé la méthode d'extraction de l'ADN

[solution n°5 p. 19]

Quelle est la première étape de l'extraction de l'ADN qui implique la rupture des membranes cellulaires?

- Précipitation
- Lyse cellulaire
- Centrifugation
- Amplification

## 3. Extraction d'ADN à partir du sang humain

**Les leucocytes sanguins** représentent la source majeure d'ADN. Les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies musculaires des malades ou des biopsies de villosités chorales ou des cultures de cellules amniotiques (amniocytes, fibroblastes...). Dans la grande majorité des cas, la technique d'extraction de l'ADN doit être adaptée à l'échantillon biologique, à la nature du génome, au nombre de copie dans l'échantillon et aux méthodes de biologie moléculaire utilisées ultérieurement.

Au cours de l'extraction certaines précautions doivent être prises comme l'utilisation de gants, la stérilisation du matériel, l'utilisation de pipettes spécialisées, l'usage de produits consommables jetables comme des pointes à filtre stériles.....

Les principaux procédés d'extraction de l'ADN diffèrent et peuvent se classer en trois principaux types :

**Les méthodes utilisant des solvants organiques.**

**Les méthodes utilisant des solvants non organiques.**

**Les méthodes basées sur l'utilisation de microcolonnes de résines échangeuses d'ions.**

### Méthode d`extraction au NaCl

- **La lyse des globules rouges et préparation du culot de leucocytes** :Le sang doit être initialement vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges. Les solutions de lyse des globules rouges sont nombreuses et variées. Par exemple : Tris 10 mM /EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid) 10 mM. La lyse est en général réalisée à 4 °C pendant 20 à 30 minutes. Le lysat est centrifugé (15 min, 1 500 g) et le surnageant est éliminé.
- **Lyse des leucocytes, dénaturation du complexe nucléoprotéique et libération de l'ADN** :le culot cellulaire contenant les leucocytes est repris dans une solution saline (NaCl /EDTA) et est traité par une solution de lyse des globules blancs contenant du l'SDS (sodium dodecyl sulfate) .L'ADN nucléaire libéré dans le milieu est alors le plus souvent traité par une protéinase très active, qui est la protéinase K elle a pour but de digérer les protéines qui lui étaient associées (18 h à 37 °C).
- **Extraction et purification de l'ADN: méthodes utilisant des solvants non organiques** : le NaCl Traiter uniquement le lysat cellulaire (produit résultant d'une lyse) par une solution saline, dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines en ajoutant 1 ml de NaCl 4M et centrifugeant 15 min à 2500 tours/min.
- **Précipitation de l'ADN**: La précipitation est le plus souvent réalisée par de l'éthanol absolu à froid et à haute concentration. La pelote d`ADN se forme, puis se précipite sous forme de filament visible à l'œil nu. Le précipité est ensuite lavé et redissolu dans l'eau ou du tampon TE : 10 :1 .

[cf. Videos d'extraction de l'ADN]

## 4. Exercice : Avez vous maîtrisé la méthode d'extraction [solution n°6 p. 19]

Quelle est la méthode la plus couramment utilisée pour extraire l'ADN à partir d'échantillons biologiques?

- Chromatographie
- Électrophorèse
- Spectrométrie de masse
- Extraction au phénol-chloroforme

# La purification et la quantification de l'ADN



**L'extraction et la purification** des acides nucléiques sont essentielles pour un grand nombre d'études en biologie moléculaire. Le rendement et la pureté des acides nucléiques sont deux éléments importants pour assurer l'efficacité et la fiabilité des analyses.

**La quantification de l'ADN est une méthode pré-analytique importante, qui revêt une grande importance pour de nombreuses méthodes d'analyse de biologie moléculaire et peut même déterminer leur succès.\***

Le dosage peut se faire par plusieurs méthodes tels que : **le spectrophotomètre, l'électrophorèse sur gel d'agarose et la PCR.**

## 1. Le dosage de l'ADN par spectrophotométrie

**La spectrophotométrie** est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer **l'absorbance ou la densité optique** d'une substance chimique donnée en solution. Plus la substance est concentrée plus elle absorbe la lumière.

Le dosage s'effectue dans l'ultra-violet à 260 nm. Il est indispensable de mesurer également l'absorption à 280 nm. Cette dernière longueur d'onde permet d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. L'absorption se définit par l'unité de densité optique mesurée à 260 nm. Une unité de densité optique correspond à l'absorption d'une solution d'ADN double brin à la concentration de 50 µg/ml ou à l'absorption d'une solution d'ADN simple brin (ou d'ARN) à la concentration de 25 µg/ml.

**La pureté** de l'ADN extrait est déterminée en calculant le rapport  $R = DO_{260\text{ nm}} / DO_{280\text{ nm}}$ .

Si :

- $1,6 < R < 2$  : l'ADN est pur.
- $R < 1,6$  : l'ADN est contaminé par les protéines,
- $R > 2$  : l'ADN est contaminé par des ARN.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, on n'aboutira pas à des résultats fiables dans les étapes suivantes de son analyse.

## 2. Exercice : avez vous maîtrisé le rôle de la purification

[solution n°7 p. 20]

Quel est l'objectif de l'étape de purification de l'ADN après l'extraction?

- Augmenter la concentration d'ADN
- Éliminer les impuretés
- Amplifier l'ADN
- Séparer les brins d'ADN

### 3. Exercice

Quelle technique peut être utilisée pour mesurer la concentration d'ADN après l'extraction?

- Chromatographie
- PCR en temps réel
- Électrophorèse
- Spectrophotométrie

### 4. Conclusion

En conclusion, **l'ADN** est une molécule fondamentale qui régit l'hérédité et la transmission de l'information génétique au sein des cellules vivantes. Ses propriétés physiques, notamment sa structure en **double hélice** et sa flexibilité, ainsi que ses **propriétés chimiques**, telles que la composition en bases azotées et les liaisons hydrogène, sont cruciales pour son rôle biologique.

La technologie moderne permet non seulement **d'extraire** et de **purifier l'ADN** de manière plus efficace, mais également de quantifier des quantités minuscules, ou même de travailler sur des échantillons anciens, ou peu accessibles.

La compréhension approfondie des propriétés de **l'ADN** et la maîtrise des techniques associées ouvrent la voie à des avancées continues dans la compréhension de la vie, de la génétique, et dans le développement de nombreuses applications qui touchent divers secteurs scientifiques et médicaux. Les recherches futures sur **l'ADN** continueront sans aucun doute à façonner notre compréhension du vivant et à ouvrir de nouvelles perspectives pour des applications innovantes.

### 5. Exercice : Tester vos acquis

#### j'ai bien compris

---

Choisir l'information correcte relative aux règles d'appariement entre 2 brins d'ADN

- Une base A s'apparie avec une base T par 3 liaisons hydrogènes
- Une base A s'apparie avec une base T par une liaison phosphodiester
- Une base C s'apparie avec une base G par 2 liaisons hydrogènes
- Une base C s'apparie avec une base G par 3 liaisons hydrogènes

#### j'ai bien compris

---

Parmi les liaisons chimiques suivantes, choisir celle qui n'existe pas dans l'ADN:

- Liaison phosphodiester
- Liaison amide
- Liaison hydrogène
- Liaison glycosidique



### Exercice

---

Quelles précautions doivent être prises pour éviter la contamination croisée lors de l'extraction de l'ADN ?

- Utiliser des équipements de laboratoire propres
- Travailler dans une hotte à flux laminaire stérile
- Utiliser des contrôles négatifs
- Toutes les réponses ci-dessus

### Exercice

---

Les étapes principales de l'extraction de l'ADN à partir d'échantillons biologiques sont : \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ des protéines et \_\_\_\_\_ des lipides, \_\_\_\_\_ de l'ADN, \_\_\_\_\_ de l'ADN et la suspension dans un tampon approprié.

# Solutions des exercices

---



## Solution n°1

[exercice p. 6]

### Exercice

---

Quel pentose est retrouvé dans l'ADN ?

le désoxyribose

### Exercice

---

Quel pentose est retrouvé dans l'ARN ?

le ribose

### Exercice

---

Quelles sont les bases azotées retrouvées à la fois dans l'ADN et l'ARN ?

La guanine, la cytosine, l'adénine

### Exercice

---

De quoi sont constitués tous les nucléotides, monomères des acides nucléiques ?

une base azotée, une molécule de sucre et un groupement phosphate.

### Exercice

---

L'acide ribonucléique (RNA) est un acide nucléique bicaténaire ?

- vrai
- faux

## Solution n°2

[exercice p. 10]

Quelle est la structure tridimensionnelle caractéristique de l'ADN ?

- Hélice simple
- Structure en zigzag
- Double hélice
- Structure en spirale

### Solution n°3

[exercice p. 10]

Quel élément est responsable de la charge négative des brins d'ADN?

- Phosphore
- Azote
- Carbone
- Hydrogène

### Solution n°4

[exercice p. 11]

Quel est le rôle de l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN?

- Séparation des brins d'ADN
- Synthèse de nouveaux brins d'ADN
- Appariement des amorces
- Détermination de la séquence génétique

### Solution n°5

[exercice p. 13]

Quelle est la première étape de l'extraction de l'ADN qui implique la rupture des membranes cellulaires?

- Précipitation
- Lyse cellulaire
- Centrifugation
- Amplification

### Solution n°6

[exercice p. 14]

Quelle est la méthode la plus couramment utilisée pour extraire l'ADN à partir d'échantillons biologiques?

- Chromatographie
- Électrophorèse
- Spectrométrie de masse
- Extraction au phénol-chloroforme

## Solution n°7

[exercice p. 15]

Quel est l'objectif de l'étape de purification de l'ADN après l'extraction?

- Augmenter la concentration d'ADN
- Éliminer les impuretés
- Amplifier l'ADN
- Séparer les brins d'ADN

## Solution n°8

[exercice p. 16]

Quelle technique peut être utilisée pour mesurer la concentration d'ADN après l'extraction?

- Chromatographie
- PCR en temps réel
- Électrophorèse
- Spectrophotométrie

## Solution n°9

[exercice p. 16]

### j'ai bien compris

---

Choisir l'information correcte relative aux règles d'appariement entre 2 brins d'ADN

- Une base A s'apparie avec une base T par 3 liaisons hydrogènes
- Une base A s'apparie avec une base T par une liaison phosphodiester
- Une base C s'apparie avec une base G par 2 liaisons hydrogènes
- Une base C s'apparie avec une base G par 3 liaisons hydrogènes

### j'ai bien compris

---

Parmi les liaisons chimiques suivantes, choisir celle qui n'existe pas dans l'ADN:

- Liaison phosphodiester
- Liaison amide
- Liaison hydrogène
- Liaison glycosidique

### Exercice

---

Quelles précautions doivent être prises pour éviter la contamination croisée lors de l'extraction de l'ADN ?

- Utiliser des équipements de laboratoire propres
- Travailler dans une hotte à flux laminaire stérile

- Utiliser des contrôles négatifs
- Toutes les réponses ci-dessus

**Exercice**

---

Les étapes principales de l'extraction de l'ADN à partir d'échantillons biologiques sont : La lyse cellulaire, élimination des protéines et la solubilisation des lipides, la précipitation de l'ADN, la purification de l'ADN et la suspension dans un tampon approprié.

# Glossaire

---



## **Clonage**

est une des bases du génie génétique qui consiste à insérer un fragment d'ADN (dénommé insert) dans un vecteur approprié comme un plasmide

## **Complémentarité**

Appariement des bases azotées des nucléotides situées sur deux brins complémentaires d'ADN ou ARN. Cet appariement a lieu à travers des liaisons hydrogène

## **Généétique**

est l'étude de la transmission des caractères héréditaires chez les êtres vivants. Elle vise à déterminer les modes de transmissions et à documenter les variations dans les gènes entre les individus

## **Mutation**

Changement d'un ou plusieurs gènes entraînant une modification du fonctionnement de la cellule et de sa durée de vie.

## **Séquençage**

une technique consiste à déterminer l'ordre linéaire des composants d'une macromolécule

## **Traduction**

est l'étape de synthèse des protéines par les ribosomes, à partir de l'information génétique contenue dans les ARN messagers.

## **Transcription**

est la première étape de l'expression génique basée sur l'ADN, au cours de laquelle un segment particulier d'ADN est « copié » en ARN par une enzyme appelée ARN polymérase.

# Abréviations

---



**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ARN** : Acide RiboNucléique

# Références

---



*"DNA Science: A First Course, Second Edition"* par David A. Micklos et Greg A. Freyer  
Ce livre est conçu comme un manuel pour l'introduction à la science de l'ADN, couvrant la structure et les techniques expérimentales.

*"Molecular Biology of the Cell"* par Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, et al.  
Ce livre couvre de manière approfondie les principes de la biologie moléculaire, y compris la structure et les propriétés de l'ADN.

*"Molecular Cloning: A Laboratory Manual"* par Joseph Sambrook et David W. Russell  
Un manuel de laboratoire qui détaille de nombreuses techniques, y compris des protocoles d'extraction d'ADN.



# Bibliographie

---



Clauser S, Conchon S. 2004. Biochimie génétique biologie moléculaire. 300 QCM et exercices. Edition Masson. Pp 136

Winter PC, Hickey GI, Fletcher HL. 2000. L'essentiel en génétique. Edition Berti.

Boom, R., Sol, C. J. A., Salimans, M. M. M., Jansen, C. L., Wertheim-van Dillen, P. M. E., & van der Noordaa, J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(3), 495–503.

# Webographie

---



<https://www.bioutils.ch/protocoles/9-extraction-dadn>