

Module : Biologie Moléculaire

Niveau : Master II

Spécialité : Biochimie Appliquée

TD 4 : Méthode d'analyse des acides nucléique

Exercice 1

On dépose trois échantillons d'ADN sur un gel d'agarose à 1 % :

ADN A : 500 pb

ADN B : 1500 pb

ADN C : 3000 pb

1. Dans quel ordre migreront ces fragments ?
2. Si on augmente la concentration du gel à 2 %, quel effet cela aura-t-il sur la migration ?
3. Quelle est la fonction du bromure d'éthidium ou du GelRed dans cette méthode ?

Exercice 2

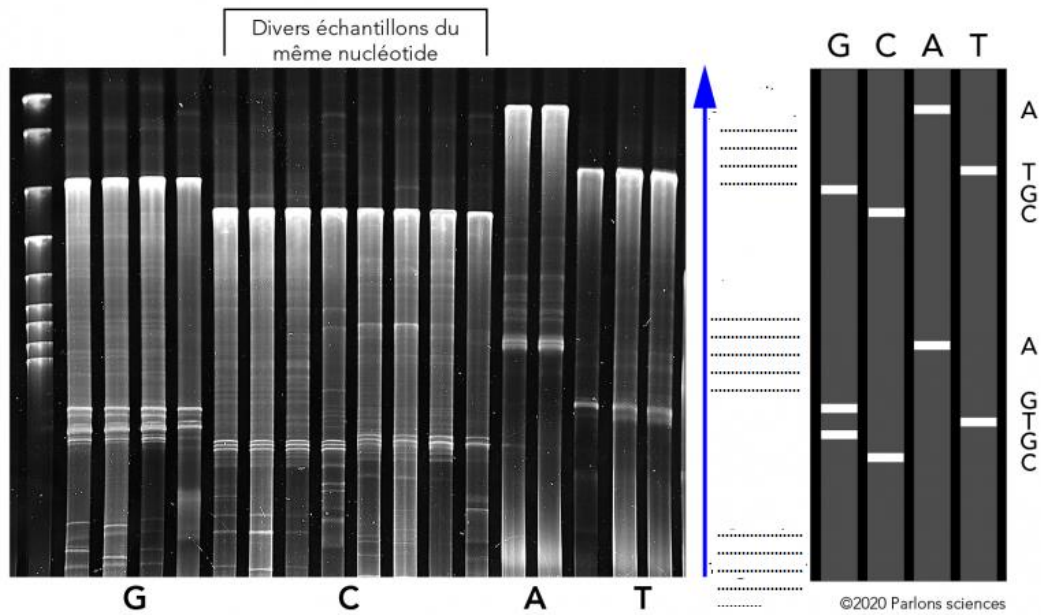
On veut amplifier un fragment de 850 pb d'un gène spécifique.

1. Citez les composants essentiels d'un mélange de PCR et leur rôle.
2. Donnez les trois étapes principales d'un cycle de PCR avec les températures typiques.
3. Si le nombre de cycles est de 30, combien de copies théoriques du fragment sont produites (formule générale : $N = 2^n$) ?
4. Quelle serait la conséquence d'une erreur de pipetage dans la concentration de $MgCl_2$?

Exercice 3

On réalise un séquençage par la méthode de Sanger.

1. Quelle est la différence entre un dNTP et un ddNTP ?
2. Pourquoi l'ajout de ddNTPs permet-il d'arrêter la synthèse de l'ADN ?
3. Comment les fragments sont-ils séparés et analysés à la fin ?
4. Quelle est la différence entre la méthode de Sanger et le séquençage de nouvelle génération (NGS) ?



Titre :

Exercice 4

Après digestion par une enzyme de restriction, on observe sur le gel trois bandes principales : 500 pb, 1000 pb et 2000 pb.

1. Que signifie la présence de plusieurs bandes ?
2. Que se passerait-il si la digestion enzymatique était incomplète ?
3. Quelle est la fonction du tampon TAE ou TBE dans cette analyse ?
4. Vous travaillez sur l'identification d'une mutation ponctuelle dans le gène BRCA1.

1. Quelle stratégie expérimentale choisiriez-vous entre :

PCR suivie de séquençage,

PCR-RFLP,

ou qPCR ?

Justifiez votre choix.

2. Quels témoins positifs et négatifs incluriez-vous ?
3. Quelle méthode utiliseriez-vous pour confirmer vos résultats ?