

Biologie Moléculaire et Génie Génétique

Dr. SELKA SARRA

Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen

Faculté SNV-STU

Département de Biologie

Email: s.selka.sek@gmail.com

1.0



Table des matières

I - Chapitre II: Techniques de préparation de l'ADN	3
1. Extraction d'ADN génomique et plasmidique	3
2. Exercice	3
3. La digestion.....	3
4. Electrophorèse sur gel d'agarose	4
5. Isolement des fragments.....	4
6. Exercice	4

Chapitre II: Techniques de préparation de l'ADN



1. Extraction d'ADN génomique et plasmidique

ADN végétal, ADN humain, ADN animal, ADN microorganisme

? Exemple

1- ADN génomique:

- Destruction des membranes : SDS / broyage avec l'azote liquide.
 - Purification: élimination des protéines cellulaire: par PK+ EDTA.
 - Extraction: phénol: dénature les protéines, chloroforme: élimine les traces de phénol.
 - Précipitation : avec l'éthanol froid récupération de la méduse d'ADN.

2- ADN plasmidique:

- La lyse alcaline
 - Gradient de chlorure de césium CsCl

2. Exercice

Purification de l'ADN : élimination des protéines cellulaire par:



3. La digestion

La digestion de l'ADN plasmide ou génomique se fait avec les enzymes de restriction pour deux but (fins):

La fin analytique	Une électrophorèse pour voir la taille
La fin préparatif	Couper pour pouvoir insérer

Le but de la digestion

4. Electrophorèse sur gel d'agarose

BET: Agent intercalant, mutagène, cancérigène et très dangereux.



- Préparation du gel d'agarose.
 - Verser dans la plaque et ajouter quelques gouttes de *BET*.
 - Déposer la peigne (former des puits) et verser un peu de solution tampon.
 - Disposer l'ADN dans les puits.
 - Migration des fragments d'ADN.

5. Isolement des fragments

- Isolement des fragments spécifiques.
 - Ligation ou clonage.
 - Excision des fragments du gel.
 - Purification de l'ADN (agarose et *BET*).

6. Exercice

La ligation de l'ADN se fait par:

- ADN polymérase
- ADN ligase
- BET