

Kit électrophorèse de l'ADN

Réf. ELECADN

A RECEPTION DU COLIS :

- Vérifier la composition** du colis indiquée ci-dessous
- Stocker** les articles du colis dans les bonnes conditions :

Ouvrir le carton

- ⚠ Placer le sachet noté D à **- 20°C** ⚠
- ⚠ Placer le sachet noté « ADN de saumon » à **+ 4°C** ⚠
- ⚠ Placer le reste à **température ambiante** ⚠

Attention : Ces conditions de stockage sont à respecter scrupuleusement pour permettre une conservation des produits du kit de 3 mois.

- Avant toute manipulation, étudier la fiche sécurité**

COMPOSITION (pour 4 gels de 8 puits) :

- 1 **sachet noté D** à stocker à **- 20°C** contenant :
 - o 1 microtube à bouchon rouge de 125 µL d'une solution d'ADN de phage lambda digéré par EcoRI : **- 20°C**
 - o 1 microtube à bouchon bleu de 125 µL d'une solution d'ADN de phage lambda digéré par HindIII : **- 20°C**
 - o 1 microtube à bouchon vert de 125 µL d'une solution d'ADN de phage lambda double digéré par EcoRI et HindIII : **- 20°C**
 - o 1 microtube à bouchon jaune de 50 µL d'enzyme de restriction EcoRI : **- 20°C**
 - o 1 microtube à bouchon blanc de 250 µL de bleu de dépôt : **- 20°C**
- 1 sachet noté « ADN de saumon » contenant 0,05 g d'ADN de saumon : **+ 4°C**
- 1 flacon de 400 ml d'Azur A prêt à l'emploi : **température ambiante à l'abri de la lumière**
- 1 sachet d'1,6 g d'agarose
- 1 sachet de 25 pasteuresses
- 1 litre de tampon TBE prêt à l'emploi
- 1 tube de 10 ml d'eau stérile

MATERIEL NECESSAIRE :

- Flacon de 1 000 mL et 500 mL
- Flacon de 500 mL supportant le micro-onde
- Epruvette de 1 000 mL, 500 mL et 250 mL
- Cuve à électrophorèse d'ADN pour gel immergé avec moule, peigne 8 puits et générateur de 70V
- Feutre
- Eau distillée
- Gant anti-chaleur ou manique de préhension
- Micro-onde ou bain marie
- Ethanol absolu
- Papier aluminium
- Tube stérile de 10 mL
- Pipettes et poires de 1 mL et de 5 mL
- Glace ou réfrigérant à microtube
- 2 Bains-marie thermostatés (37°C et 80°C) et thermomètres (-10°C à 110°C) pour vérifier la température
- Pince en bois
- Chronomètre
- Portoir flottant pour microtubes (1 place nécessaire)

MATERIEL CONSEILLE :

- Portoir à microtubes

OBJECTIFS COGNITIFS

Ce TP permet aux élèves de comprendre les principes de digestion enzymatique de l'ADN et de l'électrophorèse d'ADN.

Informations pour organiser au mieux le TP :

Avec le kit, il est possible de couler 4 gels de 6 puits et un ou plusieurs gels d'entraînement. Vous pouvez faire manipuler 4 groupes d'élèves : chaque groupe dépose dans 6 puits l'ADN de saumon, l'ADN de saumon dilué 1/8, l'ADN de saumon dilué 1/8 digéré par EcoRI, l'ADN de phage lambda digéré par EcoRI, l'ADN de phage lambda digéré par HindIII et l'ADN de phage lambda double digéré par EcoRI et HindIII.

☐NB☐ : un « groupe d'élèves » peut être un binôme ou bien un élève seul selon les besoins.

La conservation des gels est possible jusqu'à deux mois au réfrigérateur. Ils sont observables directement ou avec un rétroprojecteur.

RAPPELS

PRINCIPE DE LA DIGESTION ENZYMATIQUE :

Une enzyme de restriction est une protéine active de type endonucléase qui peut couper les liaisons phosphodiester d'un fragment d'ADN au niveau d'une séquence de nucléotides précises correspondant au site de restriction propre à l'enzyme.

Ces enzymes sont produites par les cellules comme mode de défense contre des ADN étrangers (ADN de virus...) qui pourraient pénétrer la cellule. Elles sont utilisées en biologie moléculaire pour analyser des fragments d'ADN (réalisation de carte de restriction et séquençage) et pour réaliser des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM).

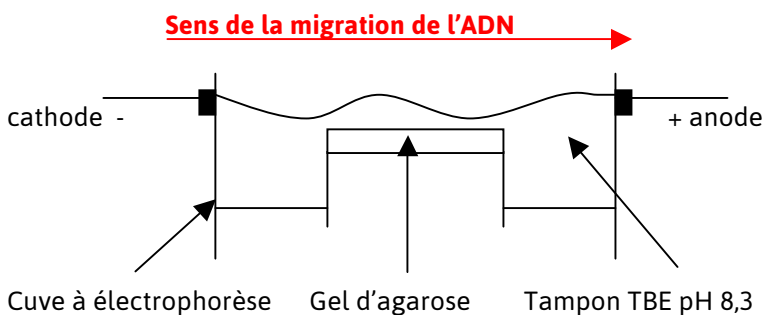
PRINCIPE DE L'ELECTROPHORESE :

L'ADN est une molécule acide. Dans un tampon à pH = 8,3 comme le TBE, elle sera chargée négativement.

Nous allons faire migrer l'ADN dans un gel d'agarose immergé dans un tampon soumis à un courant électrique. Dans ces conditions, les molécules d'ADN se dirigent vers le pôle positif (anode) plus ou moins vite en fonction de la taille des fragments. Plus les fragments sont petits, plus ils se déplacent rapidement dans le gel.

Après migration, l'ADN est coloré par l'Azure A.

☐NB☐ : l'Azure A est un colorant moins sensible qu'un agent intercalant de l'ADN comme le bromure d'éthidium (BET) proposé dans certains kits d'électrophorèse d'ADN à migration rapide et révélation immédiate mais l'Azure A n'est pas mutagène ni cancérigène !



Lorsque l'on digère une molécule d'ADN avec diverses enzymes de restriction, on obtient un "code barre" qui peut varier pour une même espèce en fonction des séquences nucléotidiques.

C'est une technique très utilisée dans la détection des maladies génétiques. Une mutation dans une séquence d'un gène peut supprimer ou ajouter un site de coupure pour l'enzyme (rappelons que les enzymes de restriction sont des endonucléases qui coupent l'ADN lorsqu'elles rencontrent des séquences précises) et ainsi entraîner la formation d'un segment plus grand ou de deux segments à la place d'un.

MARQUEUR DE MIGRATION UTILISE ; LE BLEU DE DEPOT :

C'est un colorant de charge qui permet de suivre visuellement l'avancée de la migration. Le suivi de la migration se fait grâce aux poids moléculaire des constituants du bleu : le bleu de bromophénol (bleu foncé) migre aussi vite que les plus petits fragments d'ADN et le bleu de xylène cyanol (bleu clair) migre aussi lentement que les plus gros fragments d'ADN. Une fois mélangé à l'ADN, la solution de bleu de dépôt densifie le mélange pour éviter que l'ADN ne s'échappe des puits.

ADN UTILISE : GENOME DE PHAGE λ

C'est un bactériophage qui peut infecter *Escherichia coli*. Son ADN est bicaténaire et est constitué de 48502 paires de bases. Son ADN a été entièrement séquencé et l'on connaît les sites de coupures des deux enzymes de restriction EcoRI et HindIII. Cela permet de disposer de marqueurs de longueurs connues. On peut également, grâce à l'électrophorèse, comprendre l'action des enzymes de restriction en comparant l'action de EcoRI, HindIII et de EcoRI+HindIII sur l'ADN de ce bactériophage.

ADN DE SAUMON :

L'ADN de saumon donne un résultat sous forme de traînée en électrophorèse car cet ADN ne comporte pas de fragments bien définis. Lorsqu'il est digéré par EcoRI, le poids moléculaire moyen des nombreux fragments diminue et le résultat de l'électrophorèse donne une traînée plus basse en hauteur. En effet, cet ADN de saumon comporte de nombreux sites de coupure EcoRI.

SITES DE COUPURES DES ENZYMES DE RESTRICTION UTILISEES :

Site de coupure pour l'enzyme de restriction :	
EcoRI	HindIII
$ \begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{---} \text{G} \text{---} \text{A} \text{---} \text{A} \text{---} \text{T} \text{---} \text{T} \text{---} \text{C} \text{---} 3' \\ 3' \text{---} \text{C} \text{---} \text{T} \text{---} \text{T} \text{---} \text{A} \text{---} \text{A} \text{---} \text{G} \text{---} 5' \\ \uparrow \end{array} $	$ \begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{---} \text{A} \text{---} \text{G} \text{---} \text{C} \text{---} \text{T} \text{---} \text{T} \text{---} 3' \\ 3' \text{---} \text{T} \text{---} \text{T} \text{---} \text{C} \text{---} \text{G} \text{---} \text{A} \text{---} \text{A} \text{---} 5' \\ \uparrow \end{array} $

Numéros du nucléotide de coupure sur l'ADN de phage lambda	
Par EcoRI	Par HindIII
EcoRI coupe l'ADN 5 fois : 21226, 26104, 31747, 39168, 44972	HindIII coupe l'ADN 6 fois 23130, 25157, 27479, 36895, 37459, 37584, 44141

PREPARATION

PREPARATION DE L'AGAROSE POUR 4 GELS DE MIGRATION A 0,8 % D'AGAROSE

(Opération réalisable à l'avance : gel pouvant être conservé quelques semaines à + 4°C dans un flacon bouché)

- Transvaser le contenu du sachet noté agarose contenant 1,6 g d'agarose dans un flacon de 500 mL passant au micro-onde
- Ajouter 220 mL de tampon TBE

☐NB☐ : la quantité de tampon utilisée tient compte de l'évaporation due au passage au micro-onde.

- Placer le flacon au micro-onde puissance 1000w pendant 2 à 3 minutes
- Utiliser des gants anti-chaleur ou des maniques de préhension pour saisir et manipuler le flacon chaud
- Surveiller toutes les 30 s l'état de la préparation jusqu'à ce qu'elle soit transparente et sans grumeaux

☐NB☐ : A défaut de micro-ondes, vous pouvez utiliser un bain-marie et surveillant régulièrement le mélange. Mais la fonte est beaucoup plus lente.

- Faire refroidir le mélange fondu jusqu'à une température d'environ 55°C

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : la réussite du TP réside à 50% dans la qualité du gel

Vous pouvez couler les gels tout de suite ou bien conserver le flacon de gel bouché à + 4°C pendant 4 semaines maximum.

PREPARATION DES GELS A 0,8 % D'AGAROSE ET INSTALLATION DANS LA CUVE A ELECTROPHORESE A ADN

(Opération réalisable un petit peu à l'avance : les gels se conservent environ 1 heure sur leurs supports)

- Disposer le peigne dans le moule à gel de manière à obtenir 8 puits
- Utiliser des gants anti-chaleur ou des maniques de préhension pour saisir et manipuler le flacon d'agarose chaud
- Couler dans le moule l'agarose fondu dont la température est proche de 55°C (cette quantité est prévue pour les moules et cuves de Sordalab). Le volume à couler est à adapter de manière à obtenir un gel d'environ 5 mm d'épaisseur.

☐NB☐ : Avec le contenu d'un sachet d'agarose, il est possible de couler au moins 4 gels d'épaisseur 4 à 5 mm : on compte souvent 25 mL par gel mais c'est un volume indicatif maximum. Le volume réel dépend bien sûr de votre moule.

Avec le restant de l'agarose, vous pouvez couler des gels d'entraînement pour les élèves pour qu'ils puissent s'exercer à faire des dépôts.

- Laisser refroidir jusqu'à solidification
- Laisser le peigne en place jusqu'au début du TP
- Humidifier le gel lorsqu'il est solide avec du tampon TBE de manière à ce que le gel ne se dessèche pas.
- Au moment du TP, démouler les puits et placer le gel dans la cuve à électrophorèse sans ou avec son support (s'il y a assez de support pour toute la classe) en veillant à ce que les puits du gel soient orientés du côté de l'électrode négative de la cuve (borne noire).
- Remplir la cuve de tampon TBE préparé au point 1 jusqu'à recouvrement du gel. Il n'est pas nécessaire de recouvrir énormément le gel, ceci ne ferait que rallonger la durée de la migration.

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : certaines cuves à électrophorèse du commerce ont un défaut de fonctionnement et disjonctent quand le gel est recouvert de liquide.

Cependant, le principe de l'électrophorèse nécessite le recouvrement du gel par le tampon de migration. Pour cette raison, les cuves et protocoles que nous proposons suivent le principe du recouvrement du gel par le tampon.

PREPARATION DE L'ADN DE SAUMON

(Étape réalisable quelques heures à l'avance : l'ADN se conserve quelques heures à 4°C)

- Placer, dans un tube stérile de 10 mL, l'ADN de saumon lyophilisé contenu dans le sachet noté « ADN de saumon » stocké au réfrigérateur
- Ajouter 5 mL d'eau stérile (prélevés dans le tube à bouchon rouge noté « eau stérile ») dans ce tube
- Agiter le tube et noter au marqueur « ADN de saumon »

☐NB☐ : On obtient un gel d'ADN au bout de 30 minutes qui se conserve par la suite à + 4°C

- Prélever 0,5 mL de la solution de gel d'ADN et les placer dans un tube que vous noterez « ADN de saumon dilué 1/8 »
- Ajouter 3,5 mL d'eau stérile de manière à réaliser la dilution au 1/8^{ème}
- L'ADN est prêt à être digéré par l'enzyme de restriction EcoRI. Cette digestion peut être effectuée par les élèves ou bien à l'avance car elle dure une heure.
- (Pour la digestion, prélever 500µL de la solution d'ADN diluée au 1/8 et les ajouter dans les 50µL d'enzyme de restriction EcoRI contenus dans le microtube à bouchon jaune. Laisser agir une heure ou toute une nuit à 37°C.)
- Prélever 0,1 mL dans le tube noté « ADN de saumon » et les verser dans un microtube fourni (à noter « saumon »)
- Prélever 0,1 mL dans le tube noté « ADN de saumon dilué 1/8 » et les verser dans un microtube fourni (à noter « saumon dilué »)

☐NB☐ : Conserver ces tubes à 4°C en attendant le TP

PREPARATION DE LA SALLE

Compter 4 gels pour 8 groupes d'élèves (d'un ou deux élèves) et éventuellement des gels d'entraînement

- Décongeler au dernier moment les microtubes d'ADN et de bleu de dépôt.
- Garder les microtubes dans de la glace ou dans un bac réfrigérant pour microtubes.
- Préparer des micropipettes pouvant prélever au minimum 10 µL et des cônes adaptés.
- Disposer des feutres pour identifier les microtubes.

⇒ **Conseil** ⇒ : pour ne pas mélanger les cônes si vous souhaitez les réutiliser, vous pouvez coller des gommettes de couleur correspondante à la couleur du microtube de pipetage.

☐NB☐ : Brancher les générateurs pour électrophorèse d'ADN aux cuves contenant éventuellement les gels recouverts de tampon TBE orientés tels que les puits soient du côté de l'électrode négative.

- Veiller à ce qu'il n'y ait pas de tension aux électrodes : ne pas brancher la prise électrique des générateurs.

APRES LE TRAVAIL DES ELEVES

- Lancement de la migration :
- Brancher les générateurs
- Appliquer une tension de 70 à 120 V selon si on veut obtenir une migration précise (70 V) ou rapide et bien moins précise (120V)

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : lancer la migration juste après les dépôts : ne pas attendre que les dépôts diffusent dans les gels.

- Arrêt de la migration :
- Laisser migrer jusqu'à ce que le marqueur bleu foncé (bleu de bromophénol) du bleu de dépôt soit environ à 1 cm de l'extrémité du gel (bord du côté opposé aux puits)

☐NB☐ : le temps de migration dépend de plusieurs paramètres : plus le gel est épais, plus le temps de migration est important et plus il y a de tampon de migration au dessus du gel, plus la durée de la migration augmente)

- Avec un gel de 5 mm d'épaisseur juste recouvert par le tampon de migration dans la cuve à électrophorèse Sordalab, le temps moyen de migration est compris entre 45 et 60 minutes.
- Eteindre le générateur
- Sortir le gel de la cuve

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : le gel glisse facilement et est fragile surtout s'il est séparé de son support.

MANIPULATION

Vous pouvez manipuler sur 4 gels à 6 puits. Le nombre de dépôts réalisables est de 24. Chacun des 4 groupes dépose dans 6 puits.

Vous pouvez vous entraîner à réaliser de beaux dépôts sur des gels d'entraînement, avec du bleu de dépôt dilué (100 µL d'eau et 25 µL de bleu)

PREPARATION COMMUNE DE LA DIGESTION D'ADN DE SAUMON

(Étape pouvant être réalisée à l'avance du fait de sa durée d'une heure)

Une préparation est à réaliser pour toute la classe.

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : Manipuler les microtubes en les laissant le plus possible dans la glace ou dans le dispositif réfrigérant utilisé.

- Prélever à la pipette de 1 mL, 0,5 mL d'ADN de saumon dilué au 1/8^{ème} (dans le tube noté « ADN de saumon dilué 1/8) et déposer cet ADN délicatement dans le microtube à bouchon jaune contenant 50 µL d'enzyme de restriction EcoRI
- Noter ce microtube « digestion » au feutre permanent

REALISATION COMMUNE DE LA DIGESTION DE L'ADN DE SAUMON

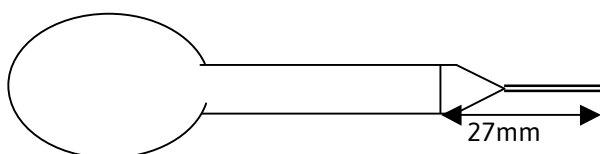
Une digestion enzymatique est réalisée pour toute la classe.

- Bien agiter le microtube noté « ADN saumon digéré »
- Placer ce microtube dans le bain-marie thermostaté réglé sur 37°C (vérifier que la température est bien à 37°C avec un thermomètre) sur un support flottant
- Déclencher le chronomètre
- Au bout d'une heure, sortir le tube du bain-marie

☐NB☐ : Ce tube peut éventuellement se conserver à - 20°C pendant quelques jours.

PREPARATION COMMUNE DU CALIBRAGE DES PASTEURETTES A PIPETER

Réaliser une marque au stylo permanent à 2,7 cm du bas de la pasteurette : le volume compris entre la marque et le bout de la pipette est de 20 µL.



PREPARATION COMMUNE DES SOLUTIONS A DEPOSER DANS LES PUIITS :

Une préparation est à réaliser pour toute la classe. Il y a 6 tubes à préparer.

- Prélever 0,1 mL, à la pipette de 1 mL, dans le tube à bouchon jaune noté « digestion » et les verser dans un microtube (noter sur ce tube « saumon digéré ») auquel vous ajoutez 25 µL de bleu de dépôt (microtube à bouchon blanc contenant un liquide bleu) à la pasteurette calibrée
- Prélever 25 µL de bleu de dépôt (microtube à bouchon blanc contenant un liquide bleu) à la pasteurette calibrée et les ajouter dans le microtube noté « saumon ».
- Faire de même pour le microtube noté « saumon dilué », les microtubes à bouchons rouge, bleu et vert contenant les ADN digérés par EcoRI, HindIII et double digéré sont prêts à l'emploi.

☐NB☐ : le bleu de dépôt permet d'alourdir l'ADN pour qu'il tombe bien au fond des puits lors des dépôts et de suivre l'avancée de la migration car un de ses constituants (le bleu de bromophénol) marque le front de migration des plus petits morceaux d'ADN.

DEMOULAGE DES PUIITS

👁👁 ATTENTION 👁👁 : vérifier que la cuve n'est pas sous tension avant de manipuler.

- Si les gels ne sont pas déjà dans les cuves, retirer délicatement le peigne des gels : tirer bien dans l'axe pour que les 6 puits calibrés soient bien formés.
- Les puits sont visibles dans le gel.
- Placer le gel dans les cuves, bien immergé dans le tampon. Rajouter éventuellement du TBE.
- Vérifier que les puits du gel sont du côté de la cathode (pôle négatif de couleur noire). Retourner éventuellement le gel.

DEPOTS DANS LES PUIITS DU GEL IMMERGE A REALISER PAR CHACUN DES 4 GROUPES

⇌ Conseils ⇌ :

Si vous ne voyez pas bien les puits, vous pouvez placer une feuille de papier noir sous la cuve.

👁👁 ATTENTION 👁👁 :

Veiller à ne pas percer les puits avec la pointe des pasteurettes.

Déposer lentement pour que l'ADN ne sorte pas du puit.

☐NB☐ : Si un gel d'entraînement a été coulé, vous pouvez vous entraîner à réaliser des dépôts avec du bleu de dépôt dilué (25 µL de bleu pour 100 µL d'eau).

- Déposer à la pasteurette calibrée 20 µL des solutions préparées au point 3)
 - o Dans le puit 1 : prélever dans le microtube noté « saumon »
 - o Dans le puit 2 : prélever dans le microtube noté « saumon dilué »
 - o Dans le puit 3 : prélever dans le microtube noté « saumon digéré »
 - o Dans le puit 4 : prélever dans le tube à bouchon rouge
 - o Dans le puit 5 : prélever dans le tube à bouchon bleu
 - o Dans le puit 6 : prélever dans le tube à bouchon vert

LANCER LA MIGRATION

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : il ne faut pas attendre après les dépôts pour lancer la migration car il faut éviter que l'ADN diffuse dans le gel

- Fermer le couvercle de la cuve
- Brancher la cuve au générateur et le générateur à la prise de courant
- Régler la tension à 70V.

👁👁 **ATTENTION** 👁👁 : Si vous utilisez un voltage plus élevé, les bandes lors de la révélation ne seront pas nettes. Plus la tension est élevée et plus la migration est rapide mais elle devient moins précise.

- Arrêter la migration quand le bleu de bromophénol (bleu foncé) arrive à 1 cm de l'extrémité du gel (bord du côté opposé aux puits)
- Pour donner une évaluation de la durée de la migration, on peut compter entre ¾ d'heure et 1h30 selon l'épaisseur du gel, la quantité de tampon dans la cuve et la marque de la cuve.

COLORATION ET RINCAGE

- Rincer le gel à l'eau distillée
- Mettre des gants pour protéger ses mains du colorant !
- Effectuer la coloration :
 - o Placer le gel dans un récipient
 - o Recouvrir le gel de solution d'Azure A (solution prête à l'emploi, après ouverture, conserver à +4°C)
 - o Laisser le gel dans ce bain de colorant pendant environ 5 minutes
 - o Vider le colorant qui reste réutilisable
 - o Laisser reposer le gel pendant quelques minutes (5 à 10 minutes)
- Effectuer le rinçage :
 - o Rincer le gel dans un bain d'eau ou bien à l'eau courante sous le robinet
 - o Dans le cas où le gel est bleu très foncé, éliminer l'excès de colorant de la surface avec quelques mL d'alcool à 70% (préparé par exemple en ajoutant 7 mL d'éthanol absolu à 3 mL d'eau distillée) pendant quelques secondes
 - o Éliminer l'alcool en rinçant le gel à l'eau du robinet plusieurs fois jusqu'à ce que l'eau de rinçage soit translucide.

☐ **NB** ☐ : On voit apparaître les bandes en quelques minutes mais l'intensité maximale de la coloration s'observe au bout de quelques heures voire même au bout de quelques jours.

- Si le gel a été trop décoloré, procéder à une nouvelle étape de coloration-décoloration.

Le gel se conserve ensuite au réfrigérateur pendant deux mois dans un récipient en plastique hermétique avec un petit peu d'eau au fond (pas trop sinon le gel continue à se décolorer) ou emballé dans un film alimentaire.

RESULTATS ATTENDUS ET INTERPRETATION

L'électrophorèse permet d'acquérir des connaissances de bases sur la technique du southern blot et l'action des enzymes de restriction.

Les groupes d'élèves peuvent établir une carte de restriction de l'ADN de phage lambda.

Il est possible de comparer cette carte à la carte de restriction du phage lambda.

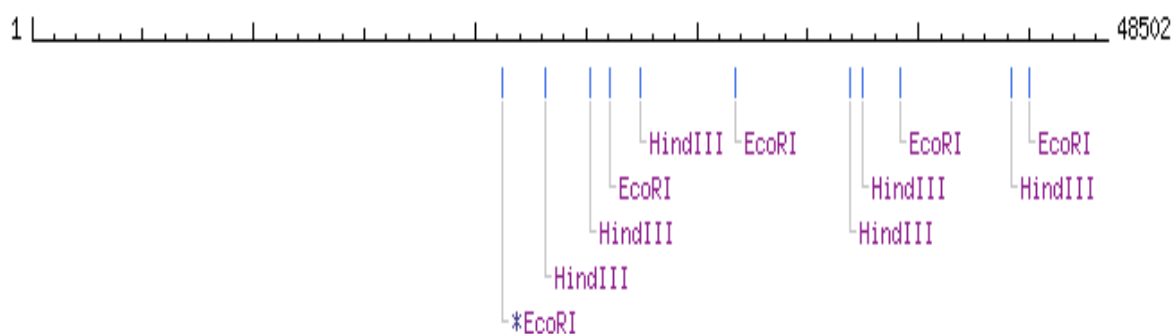
Il est facile de se procurer la séquence complète de l'ADN du phage sur Internet sur les banques de données internationales (Genbank...) ou plus simplement sur le site internet de sordalab : <http://www.sordalab.com>. Il est ensuite possible de rechercher les sites de coupure en utilisant la fonction « rechercher » d'un traitement de texte ou avec un logiciel dédié tel que webcut, necbutter, biotools... (disponibles sur internet)

DESCRIPTION DES BANDES OBTENUES SUR LES GELS :

- Puits numéro 1 et numéro 2 :
On observe une traînée : l'ADN de saumon

- Puits numéro 3 :
On observe 6 fragments dus aux 5 coupures de EcoRI sur l'ADN de phage lambda.
Taille des fragments obtenus : 21226 ; 7421 ; 5804 ; 5643 ; 4878 et 3530
- Puits numéro 4 :
On observe 7 fragments dus aux 6 coupures de HindIII sur l'ADN de phage lambda.
Taille des fragments obtenus : 23130 ; 9416 ; 6557 ; 4361 ; 2322 ; 2027 ; (564 : fragment invisible sur le gel)
- Puits numéro 5 :
On observe 12 fragments dus aux 11 coupures de EcoRI et HindIII sur l'ADN de phage lambda non muté.
Taille des fragments obtenus : 21226 ; 5148 ; 4973 ; 4268 ; 3530 ; 2027 ; 1904 ; 1584 ; (1375 ; 947 ; 831 ; 564 : fragments invisibles sur le gel)

CARTE DE RESTRICTION DE L'ADN DE PHAGE LAMBDA :



BANDES OBTENUES POUR LES 3 DERNIERS Puits DU GEL D'ELECTROPHORESE :

<input type="checkbox"/>	21 226	<input type="checkbox"/>	23130	<input type="checkbox"/>	21226
<input type="checkbox"/>	7 421	<input type="checkbox"/>	9416		
<input type="checkbox"/>	5 804	<input type="checkbox"/>	6682		
<input type="checkbox"/>	5 643			<input type="checkbox"/>	5148
<input type="checkbox"/>	4 878			<input type="checkbox"/>	4973
		<input type="checkbox"/>	4361		
<input type="checkbox"/>	3 530			<input type="checkbox"/>	4268
				<input type="checkbox"/>	3530
		<input type="checkbox"/>	2322		
		<input type="checkbox"/>	2027	<input type="checkbox"/>	2027
				<input type="checkbox"/>	1904
				<input type="checkbox"/>	1584
					(1375)
					(947)
					(831)
			(564)		(564)
Digéré par EcoRI		Digéré par HindIII		Double digéré par EcoRI et HindIII	

☞ Pour aller plus loin :

- Ce kit peut être complété par les kits d'électrophorèse de l'ADN, carte de restriction et dépistage génétique ainsi que digestion et localisation des sites de coupures.
- Il est aussi possible d'aborder la nécessité d'avoir des échelles de poids moléculaires ou des schémas de gel d'électrophorèse pour pouvoir déterminer la taille des fragments

FICHE SECURITE (guide non exhaustif)

Ne pas ingérer. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer abondamment.

Les ADN, les enzymes, le tampon TBE, le bleu de dépôt et l'Azure A ne requièrent pas de précautions d'utilisation particulières. Nous vous recommandons tout de même de manipuler ces produits avec des gants pour éviter tout contact direct avec la peau.

La gélose chaude peut provoquer des brûlures. Manipuler avec des gants anti-chaueur. En cas de brûlures, passer sous l'eau froide immédiatement et contacter le service médical si nécessaire.

FICHE TRI ET RECUPERATION

Les ADNs peuvent être jetés à l'évier en faisant couler de l'eau. Il faut diluer le bleu de dépôt et l'azure A avant de les rejeter mais il est préférable de les récupérer dans des containers prévus à cet effet.

Les tubes en plastique, après rinçage, peuvent être jetés dans les bacs de récupération du plastique (sans leur bouchon).

L'agarose peut être jeté à la poubelle.