



Mini Laboratoire de
génétique PTC
Guide de l'élève

Cat# M3003TAE
Version 080221-FR



Table des matières

Sécurité au laboratoire	2
Contextualisation	3
Questions pour les élèves	7
Partie I : Electrophorèse	8
Partie II : Résultats	11
Partie III : Analysez vos données	12
Annexe A - La génétique mendélienne : Un bref aperçu	14
Annexe B - Qu'est-ce que l'électrophorèse sub gel ?	16

Sécurité au laboratoire

1. Faites preuve de prudence lorsque vous chauffez ou faites fondre des réactifs.
2. Faites preuve de prudence lorsque vous travaillez avec des équipements électriques.
3. Les gants et les lunettes de protection doivent être utilisés chaque fois que cela est nécessaire dans le cadre des bonnes pratiques de laboratoire.
4. Lavez-vous soigneusement les mains après avoir manipulé du matériel biologique et des produits chimiques.

Objectifs

Formuler une hypothèse et une méthode expérimentale pour la tester. Développer une compréhension de l'électrophorèse et des principes génétiques. Analyser les résultats et déduire les génotypes à partir d'informations phénotypiques et généalogiques données.

Contexte

En 1931, un chimiste du nom d'Arthur Fox commence à mesurer du phénylthiocarbamide (PTC) en poudre. En versant à la hâte, Fox a accidentellement dispersé une partie du produit chimique dans l'air ambiant. Les collègues de laboratoire de Fox, qui se trouvaient à proximité, se sont plaints du goût amer de l'air dû au produit chimique. Pourtant, Fox était perplexe : il ne goûtait rien. Depuis ce jour, le PTC a été utilisé pour montrer la variation génétique dans les capacités de dégustation. Lorsque les gens goûtent au PTC, certains ressentent une forte amertume, d'autres un goût légèrement amer, et d'autres encore ne goûtent rien du tout. En utilisant la génétique, nous pouvons essayer de comprendre pourquoi certaines personnes peuvent goûter ce produit chimique et d'autres pas. (Voir l'annexe A pour plus d'informations sur le patrimoine génétique).

Le goût et la génétique

La sensation de goût peut être classée en cinq catégories de base : sucré, acide, salé, amer et umami (le goût du glutamate monosodique). Ces cinq goûts servent à classer les composés selon qu'ils sont potentiellement nutritifs et bénéfiques (sucré, salé, umami) ou potentiellement nocifs ou toxiques (amer, acide). La capacité de goûter est due à la présence de cellules réceptrices du goût spécialisées et chimiquement sensibles sur la surface de la langue et de la gorge. Lorsque nous mangeons quelque chose de sucré, les molécules solubles de l'aliment se dissolvent dans la salive et se lient à des protéines réceptrices spécifiques à la surface des cellules réceptrices qui détectent le goût sucré. Les cellules réceptrices stimulées envoient des impulsions nerveuses à la région gustative du cerveau où le sens du goût est interprété. Différents types de récepteurs gustatifs sont activés par différents produits chimiques, et les impulsions nerveuses qu'ils envoient au cerveau sont interprétées comme des goûts différents.

Les scientifiques ont montré que les protéines réceptrices du goût TAS2R sont responsables de la capacité humaine à goûter les substances amères. Ces protéines réceptrices du goût sont codées par une trentaine de gènes différents. L'un des gènes les mieux étudiés, le TAS2R38, code pour un récepteur couplé aux protéines G (RCPG) qui contribue au goût de la substance chimique phénylthiocarbamide (PTC). Lorsque des molécules de PTC se lient à la protéine réceptrice TAS2R38, certaines personnes peuvent ressentir l'amertume, tandis que d'autres ne ressentent aucun goût - nous les appelons respectivement "goûteurs" et "non-goûteurs". Le PTC est un produit chimique fabriqué par l'homme qui ressemble aux alcaloïdes toxiques présents dans certaines plantes vénéneuses. Bien que le PTC ne soit pas présent dans la nature, la capacité à le goûter est fortement corrélée à la capacité à goûter d'autres substances amères présentes dans la nature, dont beaucoup sont des toxines.

Goût et génétique (suite)

Cette variation génétique dans la capacité à goûter le PTC a suscité un grand intérêt chez ceux qui étudient la génétique. La variation de la sensibilité au PTC est déterminée par deux allèles communs du gène TAS2R38 : l'allèle fonctionnel et l'allèle muté. La séquence d'ADN entre ces deux allèles ne diffère que par une seule paire de bases. Ce type de polymorphisme au sein de une séquence d'ADN est appelée "polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP)". Une seule mutation ponctuelle modifie la séquence codante de l'ADN, la protéine produite et la fonction de la protéine. Toute personne possédant un seul allèle fonctionnel peut fabriquer la protéine du récepteur PTC et peut donc goûter l'amertume du PTC. Certaines études ont montré que lorsque des dégustateurs homozygotes (porteurs de deux allèles fonctionnels) tentent de goûter du PTC, ils ressentent une amertume plus intense que les dégustateurs hétérozygotes (porteurs d'un seul allèle fonctionnel). En revanche, les non-goûteurs homozygotes (porteurs de deux allèles mutants) ne peuvent pas du tout goûter l'amertume du PTC.

Dans ce MiniLab, les échantillons d'ADN fournis ne comprennent qu'une courte région du gène TAS2R38. Cette région du gène TAS2R38 a une longueur de 221 paires de bases (pb). Comme mentionné ci-dessus, l'allèle fonctionnel et l'allèle mutant ne diffèrent que par une seule paire de bases. Pour distinguer ces deux allèles, nous pouvons soit 1) séquencer les fragments d'ADN pour trouver la séquence nucléotidique exacte, soit 2) combiner les techniques de digestion par enzymes de restriction et d'électrophorèse sur gel pour révéler la différence.

Digestion de restriction

Qu'est-ce qu'une enzyme de restriction ? Une enzyme de restriction (une endonucléase) est une enzyme qui peut analyser une molécule d'ADN double brin (ADNdb) à la recherche d'une séquence spécifique de paires de bases appelée site de restriction, puis effectuer une coupure au niveau ou à proximité du site de restriction de l'ADNdb.

Nous avons utilisé l'enzyme de restriction HaeIII pour couper les échantillons d'ADN (la courte région de 221 pb du gène TAS2R38). HaeIII recherche le site de restriction "GGCC" de 4 bases de long qui **n'est présent que dans l'allèle fonctionnel TAS2R38**. Dans ce cas, HaeIII coupe l'ADNdc de l'allèle fonctionnel en deux fragments (176 pb et 45 pb) **mais ne peut pas couper** l'ADNdc de l'allèle mutant. Après incubation des échantillons d'ADN avec HaeIII, les fragments d'ADN coupés et non coupés peuvent être séparés par taille en utilisant la technique d'électrophorèse sur gel.

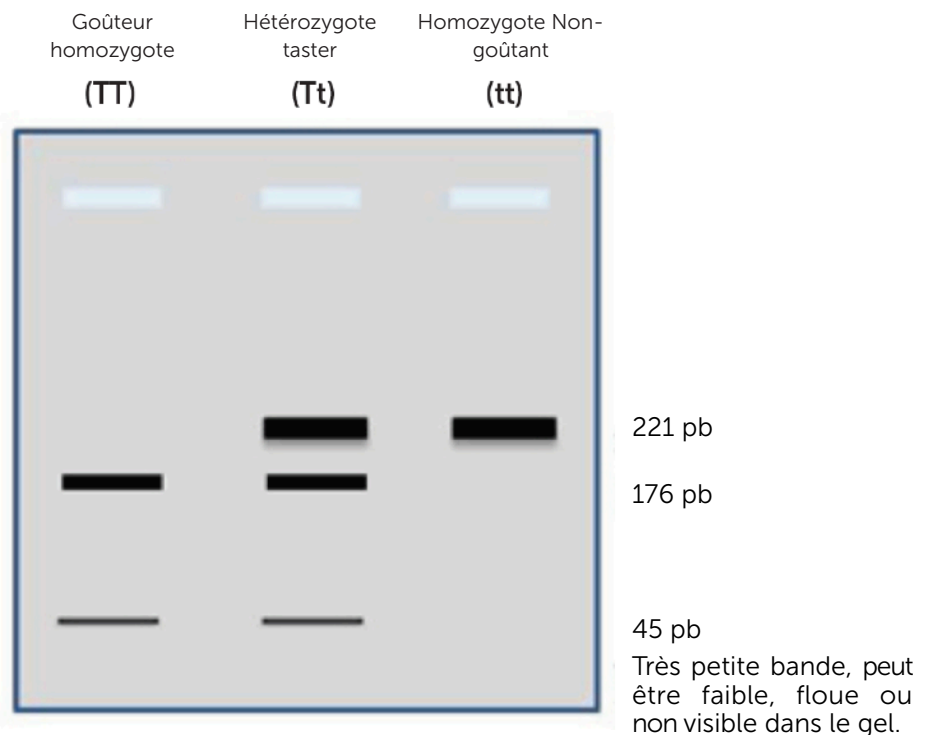
En vous basant sur la fonction de l'enzyme de restriction HaeIII, vous savez pourquoi un échantillon a deux bandes et l'autre une seule, mais vous vous demandez peut-être pourquoi celui du milieu a trois bandes. Cela s'explique par le fait que les hétérozygotes possèdent une copie de chaque allèle : une qui peut être coupée et une qui ne le peut pas. L'allèle muté ne peut pas être coupé, le fragment de 221 pb reste donc intact, mais l'allèle normal peut être coupé, ce qui donne un fragment de 176 pb et un fragment de 45 pb. Comme ils sont tous présents dans le même échantillon, le résultat final est trois fragments de tailles distinctes.

Digestion de restriction (suite)

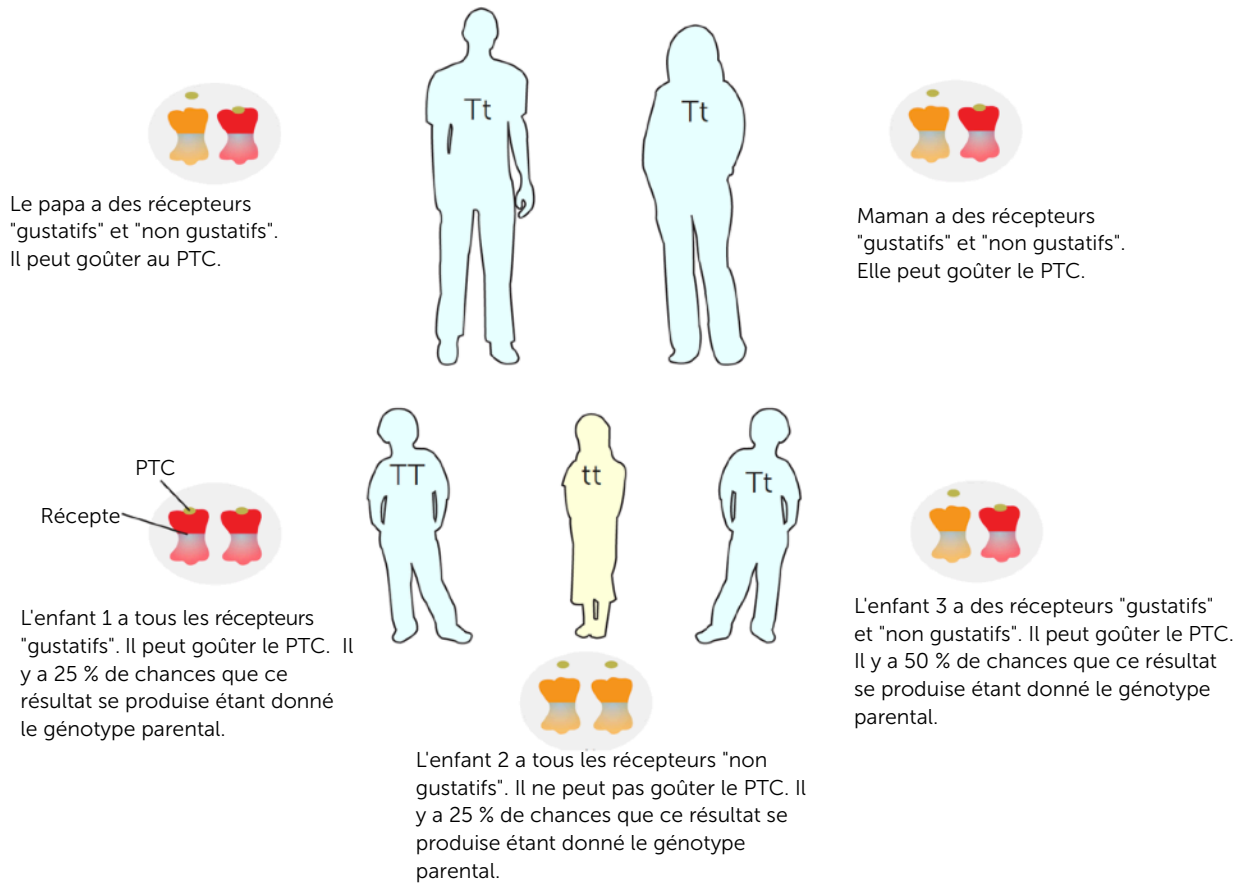
Les comparaisons entre les différents types de dégustateurs PTC et les profils d'ADN correspondants sur le gel sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Type de dégustateur	Génotype TAS2R38	Site de restriction HaeIII	Modèle d'ADN
Goûteur homozygote	TT (2 allèles fonctionnels)	Oui, présent sur les deux allèles fonctionnels	2 bandes 176 pb - fragment de fonctionnel 45 pb - fragment de fonctionnel Remarque : en raison de la très petite taille du fragment de 45 pb, cette bande peut être faible, floue ou non visible sur le gel.
Goûteur hétérozygote	Tt (1 allèle fonctionnel, 1 allèle mutant)	Oui, présent sur l'une des fonctions	3 bandes 221 pb - mutant non coupé 176 pb - fragment de fonctionnel 45 pb - fragment de fonctionnel
Homozygote Non-Goûteur	tt (2 allèles mutants)	Non présent sur les deux allèles mutants	1 bande 221 pb - mutant non coupé

Ce diagramme illustre les différents motifs possibles après une séparation électrophorétique sur un échantillon de 2 % gel d'agarose.



La sensibilité au PTC est souvent utilisée comme un exemple d'hérédité mendélienne simple (pour plus d'informations, voir l'annexe A). Vous trouverez ci-dessous un exemple d'hérédité mendélienne simple.



Scénario

Jillian est une élève du lycée. Sa classe a découvert la dégustation du PTC lorsqu'elle a appris les caractéristiques génétiques héréditaires (pour un aperçu de l'hérédité mendélienne, voir l'annexe A). Il s'est avéré qu'elle n'était pas une goûteuse. Jillian a décidé de se procurer du papier PTC et de demander à sa famille de faire le test de dégustation, puis de dessiner un arbre généalogique sur la base des données de dégustation. Étonnamment, tous les membres de sa famille sont des goûteurs : sa mère, son père, ses deux frères, et même ses grands-parents, ses tantes et ses oncles. Jillian est assez perplexe. Est-il possible que Jillian ne puisse pas goûter le PTC alors que tous les autres membres de sa famille le font ? Sur la base de ce que vous savez sur la génétique, formulez une hypothèse et expliquez comment vous pourriez la vérifier.

Hypothèse

Questions pour les élèves

Activité

Distribuez le papier PTC et demandez aux élèves de le goûter. Posez les questions suivantes :

1. Êtes-vous un goûteur de PTC ? Si oui, quel est le goût du PTC ?
2. Combien de personnes dans votre classe sont des goûteurs ? Combien de personnes dans votre classe ne sont pas des goûteurs ?
3. Pourquoi pensez-vous que certaines personnes peuvent goûter à la PTC et d'autres non ?

Questions

4. Qu'est-ce que l'ADN et que fait-il ?
5. Que sont les chromosomes et combien de copies avez-vous dans chacune de vos cellules ? De qui viennent-ils ?
6. Quelle quantité d'ADN partagez-vous avec chacun de vos parents ? Quelle quantité d'ADN partagez-vous avec vos frères et sœurs ?
7. Quelles sont les caractéristiques ou les propriétés de l'ADN ?

Partie I: Electrophorèse

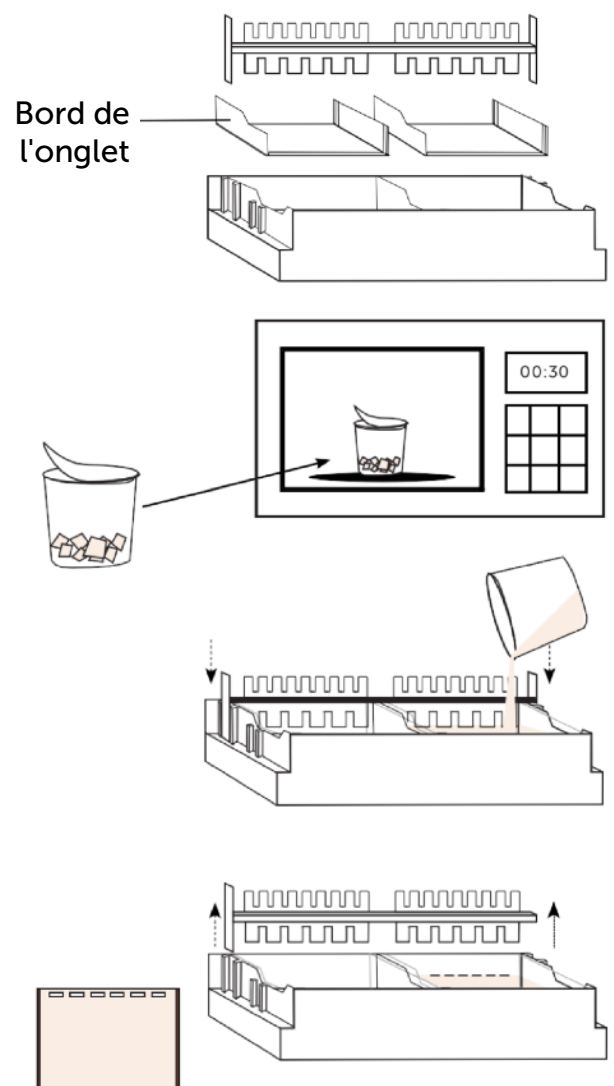
Materials

- 1 Système de coulage MiniOne
- 1 Système d'électrophorèse MiniOne
- 1 Coupelle agarose GreenGel™ (2%)
- 6 aliquotes d'échantillons d'ADN
- Le tampon de migration TAE (135 mL)
- 1 micropipette (2-20µL)
- 6 Embouts de micropipettes


Bien	Nom de l'échantillon	Volume de chargement
1	ADN M	10 µL
2	ADN D	10 µL
3	ADN J	10 µL
4	ADNB1	10 µL
5	ADN B2	10 µL
6	ADN G	10 µL

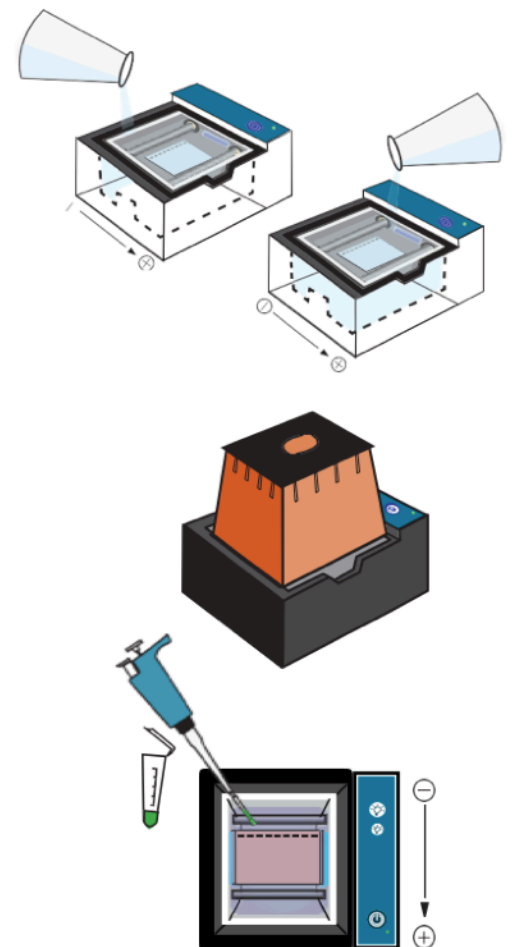
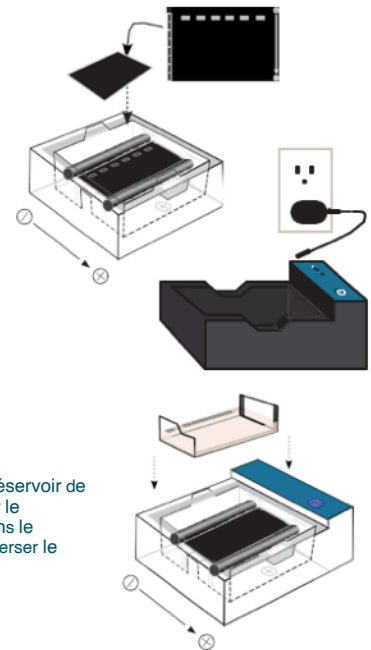
Coulage du gel

1. Placez le support de coulage de gel MiniOne® sur une surface plane et placez des plateaux de gel dans les deux cavités. Pour une orientation correcte du plateau, placez le bord de la languette du plateau sur le côté gauche. Insérez le peigne dans les fentes en haut du support de coulage avec le côté 6 puits vers le bas.
2. Décoller partiellement le film d'une coupelle avec le GelGreen™ et le mettre au micro-ondes pendant 20 secondes. Laissez refroidir pendant 15 secondes. **NE PAS mettre plus de 2 coupelles de gel au micro-ondes à la fois.**
3. **Exigence de sécurité** : La surveillance d'un adulte est requise si les élèves manipulent seuls des coupelles de gel!
4. **Une coupelle de gel sert à fabriquer un gel d'agarose** Versez lentement la solution d'agarose chaude dans un moule. Assurez-vous qu'il n'y a pas de bulles d'air dans la solution d'agarose. Laissez le gel d'agarose se solidifier pendant 10 minutes ou jusqu'à ce qu'il soit opaque. **NE PAS remuer le gel ou faire vibrer le support avant que le temps soit écoulé.**
5. Retirez soigneusement le peigne lorsque le gel est prêt. Retirez le plateau de gel avec le gel solidifié du support de coulage et essuyez tout excès d'agarose du fond du plateau.




Comment charger un gel

1. Assurez-vous que la plate-forme d'observation noire se trouve dans le réservoir de gel. Assurez-vous que les puits sont alignés avec les marques de la plate-forme sur l'extrémité négative.
2. Branchez l'alimentation électrique au secteur et insérez soigneusement l'autre extrémité à l'arrière du générateur MiniOne®.
3. Placez la cuve d'électrophorèse dans le générateur de manière à ce que les électrodes de carbone touchent les rivets dorés et que la cuve soit au niveau du chariot.
4. Placez le plateau avec le gel dans la cuve de gel.
5. Le réservoir de gel ne doit pas contenir de tampon lorsque vous placez le plateau de gel avec le gel dans celui-ci.
6. Allumez la LED bleue de faible intensité en appuyant sur le  bouton du générateur.
7. Mesurez 135 ml de tampon migration TAE et le verser dans un côté de la cuve. Regardez l'air sortir entre le plateau de gel et la plate-forme d'observation. Une fois que l'air a été retiré du dessous du plateau de gel, versez le tampon restant dans l'autre côté de la cuve.
8. Placez le filtre orange sur le générateur.
9. Appuyez sur le bouton marche qui devrait maintenant être un feu vert fixe. Si le voyant vert est allumé, éteignez l'appareil et passez au chargement des gels. Si le voyant vert **clignote**, consultez le guide de dépannage.
10. Assurez-vous que la lumière bleue de faible intensité est allumée. Déposez dans chaque puits les échantillons de volume appropriés à votre activité. Les MiniLabs sont conçus pour utiliser 10 μ L par puits. N'oubliez pas de changer les embouts de pipette pour chaque échantillon. **Notez le nom de chaque échantillon correspondant aux puits adéquat pour faciliter l'analyse ultérieure**

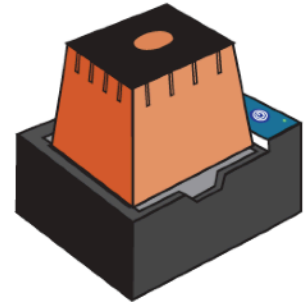


Migration et résultats


1. Une fois que le gel est chargé, ne le déplacez pas. Assurez-vous que l'alimentation électrique est branchée et placez le filtre orange sur le générateur. Allumez l'appareil en appuyant sur le  bouton.

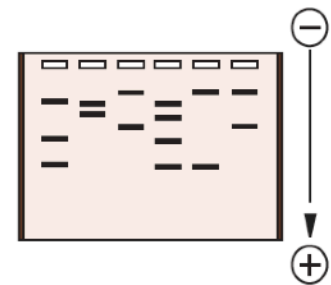
Le voyant vert à côté du bouton s'allume.

- Le voyant vert ne s'allume pas si :
- La cuve n'est pas correctement placée à l'intérieur du générateur.
- Il n'y a pas de tampon dans la cuve.
- Le tampon est trop dilué.
- Le filtre orange n'est pas sur le générateur. Il y a trop peu de tampon de migration.
- L'alimentation électrique n'est pas branchée. Vérifiez en allumant les LED bleues.



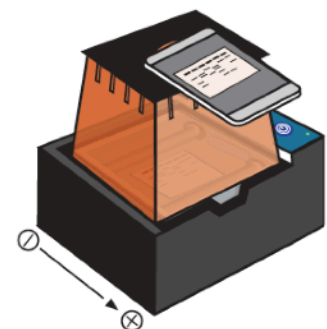
2. Demandez aux élèves de vérifier périodiquement la migration des bandes (toutes les cinq minutes).

3. Laissez le gel migrer pendant **20 minutes** ou jusqu'à ce que la séparation de l'ADN soit suffisante. N'oubliez pas que les petits échantillons d'ADN migrent plus vite, il est donc important de vérifier périodiquement où se trouvent vos bandes. Une fois votre analyse terminée, coupez l'alimentation en appuyant sur le  bouton. Utilisez la basse intensité pour le visionnage pendant la migration. La lumière affaiblit le signal fluorescent de l'ADN.



4. **Archivez vos résultats.**

Si nécessaire, **essuyez la condensation à l'intérieur du filtre orange avec un chiffon doux**, puis remettez la filtre orange sur le générateur. Allumez la lumière à haute intensité. Placez votre téléphone portable ou votre appareil photo directement sur le filtre orange pour prendre une photo de la migration de l'ADN. Ne pas zoomer, ni de flash car les photos seraient alors floues. (Le filtre orange photo est déjà à la distance focale optimale pour un smart phone.)

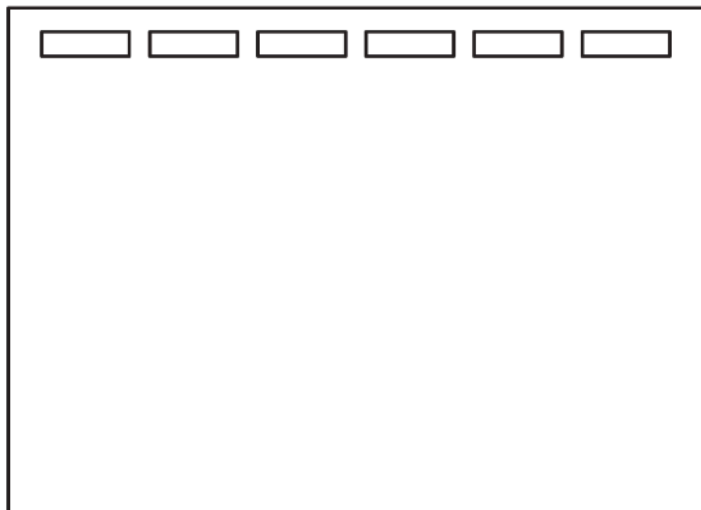


Nettoyage

1. Après avoir recueilli les données et documenté les résultats, retirez la hotte photo et débranchez l'alimentation électrique de la prise et de l'arrière du chariot MiniOne®. Retirez le réservoir transparent du chariot et retirez le gel et le plateau du réservoir.
2. Versez le tampon utilisé dans l'évier ou dans un béccher à déchets. Jetez le gel. Rincez le réservoir en plastique transparent, le plateau à gel, le peigne et le système de coulage avec de l'eau déminéralisée ou distillée. Laissez les cuves sécher à l'air libre avant de les ranger.
3. Utilisez une serviette en papier ou un kimwipe pour essuyer délicatement les rivets dorés du chariot (où les électrodes sont connectées) afin de vous assurer que toute l'humidité a été éliminée. Essayez tout tampon qui aurait pu se répandre dans le chariot noir. Suivez toutes les instructions supplémentaires données par l'instructeur pour le nettoyage et le stockage.

Partie II: Résultats

A quoi ressemble votre gel ? Enregistrez des images du gel.

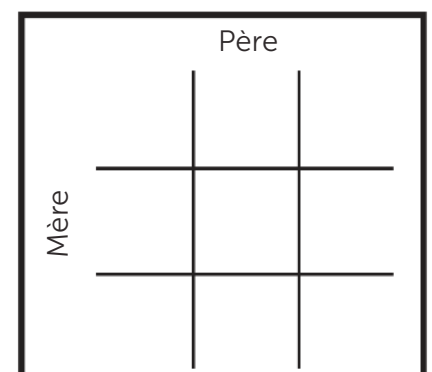


Lane 1: _____
Lane 2: _____
Lane 3: _____
Lane 4: _____
Lane 5: _____
Lane 6: _____

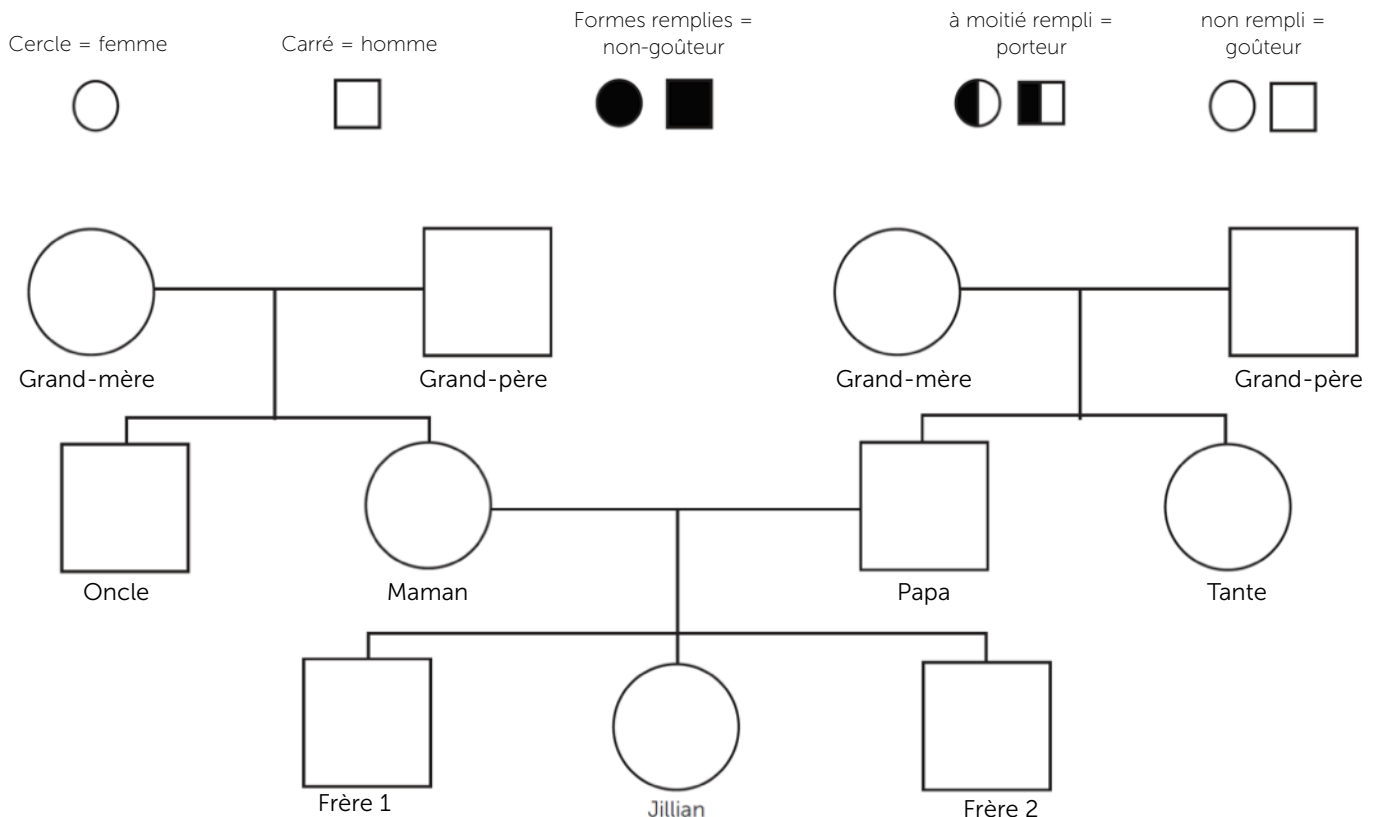
Partie III : Analysez vos données

1. Combien de bandes d'ADN voyez-vous dans l'échantillon de Jillian ? Jillian n'est pas un goûteur, combien d'allèles PTC différents possède-t-elle ?
2. Combien de bandes d'ADN vois-tu dans les échantillons de la mère et du père de Jillian ? La mère et le père de Jillian sont des dégustateurs, combien d'allèles PTC différents ont-ils ?
3. En vous basant sur le schéma d'ADN sur le gel et sur la génétique des gènes PTC que vous avez appris, pouvez-vous déterminer quelle bande d'ADN correspond à l'allèle PTC normal et quelle bande correspond à l'allèle PTC mutant ?
4. Quel est le génotype de Jillian, de sa mère et de son père ?
5. Pouvez-vous prédire quel gène PTC Jillian a reçu de sa mère et de son père ?

6. Comparez les gènes PTC de la mère et du père de Jillian à ceux de Jillian. Sur la base des données, votre hypothèse est-elle confirmée ou réfutée quant à la raison pour laquelle Jillian n'est pas une dégustatrice PTC et les parents de Jillian sont des dégustateurs PTC ? Dessinez un carré de Punnett pour expliquer vos résultats.



- Les profils d'ADN observés dans les échantillons du frère de Jillian correspondent-ils à leur capacité à goûter le PTC ?
- Qu'est-ce que l'observation des profils d'ADN dans l'échantillon du grand-père maternel de Jillian vous apprend sur le gène PTC de sa grand-mère maternelle ?
- Quel est le pourcentage de chance que les parents de Jillian aient un autre bébé qui ne puisse pas goûter le PTC ? Et s'il était comme Frère 1, homozygote pour le gène du goût du PTC ? Ou comme le frère 2, hétérozygote ?
- Sur la base de ce que vous avez appris de cette analyse, complétez autant que possible l'arbre généalogique. Si vous ne disposez pas des données du génotype, complétez ce que vous pouvez avec les données du phénotype.



Annexe A - La génétique mendélienne : Un bref aperçu

Contexte

Dans les années 1860, Gregor Mendel était un moine autrichien qui étudiait les plants de pois. À la suite de ses expériences, il a élaboré et présenté une nouvelle théorie de l'héritage génétique. À l'époque, la notion typique de l'hérédité était que les traits étaient le résultat du mélange des "essences" parentales, un peu comme si on mélangeait de la peinture jaune et rouge pour obtenir de l'orange. Mendel pensait que l'hérédité était le résultat d'unités distinctes d'hérédité, et que chaque unité individuelle (gène) agissait indépendamment dans le génome d'une personne. Mendel pensait que tous les traits étaient contrôlés par des gènes uniques, mais nous savons aujourd'hui que de nombreux traits sont déterminés par plusieurs gènes différents, ainsi que par des facteurs environnementaux.

Modèle d'hérédité mendélienne simple

Selon la théorie de Mendel, l'hérédité d'un trait ou d'une caractéristique spécifique dépend de la transmission de ces unités des parents à la progéniture, et il a élaboré deux lois pour décrire ce processus. Il existe différentes formes de gènes, et ces différentes formes sont appelées allèles. La loi de ségrégation de Mendel stipule que les gènes d'un parent se divisent en leurs allèles constitutifs et qu'une personne hérite d'un allèle de chaque parent pour tout caractère donné, ce qui donne un gène complet. Elle stipule également que l'allèle qui est transmis est entièrement le fruit du hasard. L'autre loi est la loi de l'assortiment indépendant qui stipule que les allèles sont transmis à la descendance indépendamment les uns des autres. Cela signifie que l'héritage d'un ou de plusieurs gènes à un endroit du génome n'affectera pas l'héritage d'autres gènes ailleurs. Si les allèles hérités des deux parents sont identiques, on considère que la personne a un génotype homozygote pour ce caractère. Si les allèles sont différents, le génotype est hétérozygote.

Génotype et phénotype

Votre génotype est le code génétique réel que vous possédez, tandis que votre phénotype est l'expression de votre génotype de manière observable, comme la couleur de vos cheveux ou de vos yeux, votre capacité à goûter certains produits chimiques, etc. Votre phénotype est affecté par les allèles de votre génotype. Les allèles sont classés différemment en fonction de leur interaction. Ils peuvent être considérés comme dominants, codominants, incomplètement dominants, récessifs ou une combinaison de ceux-ci (tout est relatif).

Les allèles dominants et récessifs sont simples. Les allèles dominants sont généralement désignés par une lettre majuscule (exemple : T). Un allèle dominant masque complètement l'expression de l'autre allèle. Les hétérozygotes et les homozygotes dominants exprimeront ce phénotype. Les allèles récessifs sont généralement désignés par une lettre minuscule (exemple : t). Un allèle récessif est masqué par tout allèle qui lui est dominant. Les homozygotes seront les seuls à exprimer le phénotype de ces allèles.

La codominance et la dominance incomplète sont deux choses bien distinctes, mais toutes deux sont le résultat d'une combinaison d'allèles différents (hétérozygotes). La grande différence entre ces deux catégories est la manière dont le phénotype est affecté. Dans ces deux cas, la dénotation peut être définie de manière arbitraire, un allèle étant représenté par une majuscule et l'autre par une minuscule, ou bien deux lettres différentes peuvent être utilisées toutes ensemble.

Annexe A - Génétique mendélienne (suite)

Les allèles codominants expriment les deux phénotypes simultanément. Par exemple, une fleur aux pétales rouges et blancs dont l'un des parents a des pétales blancs et l'autre des rouges. Un autre exemple de co-dominance d'allèle est le système humain de typage sanguin ABO. Le type O est récessif par rapport aux types A et B, mais les types A et B sont co-dominants. C'est ainsi qu'une personne peut avoir du sang AB ; les deux allèles A et B sont exprimés. Toutefois, si son génotype est AO, l'allèle A est le seul à s'exprimer, de sorte que le phénotype sera de type A.

La dominance incomplète décrit également l'expression simultanée des deux allèles, mais il s'agit plutôt d'un mélange des deux phénotypes des homozygotes au lieu de la présence des deux phénotypes homozygotes. Un exemple de ce phénomène serait une fleur aux pétales roses (Rr), dont l'un des parents a des pétales rouges (RR) et l'autre des blancs (rr). Les phénotypes se mélangent pour produire un troisième phénotype intermédiaire.

Références et ressources supplémentaires

Plus d'informations sur le contexte

<http://learn.genetics.utah.edu/content/inheritance/ptc/>

Exemples de protocoles et de guides pédagogiques

Cet exemple de guide de l'enseignant et le protocole de l'élève qui l'accompagne sont adaptés d'exemples rédigés et partagés par le projet Biotech de l'Université d'Arizona.

<http://biotech.bio5.org>

Références :

N. Chaudhari et S. Roper (2010) The Cell Biology of Taste. JCB 190(3) 285 - 296.

<http://jcb.rupress.org/content/190/3/285.full>

Centre d'apprentissage des sciences génétiques. CTP : Les gènes et le goût amer.

<http://learn.genetics.utah.edu/content/inheritance/ptc/>

Laboratoire de Cold Spring Harbor. Dolan DNA Learning Center.

<http://www.dnalc.org/>

<http://knowgenetics.org/mendelian-genetics/>

Annexe B - Qu'est-ce que l'électrophorèse sub gel ?

L'électrophorèse sur gel est une technique utilisée dans de nombreux domaines scientifiques pour analyser les composants de mélanges chimiques complexes. Les mélanges d'ADN, d'ARN, de protéines ou de colorants peuvent être séparés en leurs composants individuels sur la base de la taille moléculaire et de la charge électrique en utilisant une matrice de séparation dans un champ électrique.

Le gel utilisé dans l'électrophorèse sur gel est un enchevêtrement de polymères formant une matrice tridimensionnelle avec des pores remplis d'eau à travers lesquels les molécules migrent. Une densité plus élevée de polymères crée des pores plus petits. Comme les trous d'un tamis ou d'une passoire, la taille des pores doit être adaptée à la taille des molécules à séparer. Les gels peuvent être fabriqués à partir de différentes substances selon l'application. L'un des matériaux les plus couramment utilisés et les plus efficaces est l'agarose, un polymère extrait d'algues marines. Les gels d'agarose sont formés (ou coulés) en versant de l'agarose fondu dans un plateau où il se solidifie en refroidissant pour prendre la forme souhaitée. Un peigne est placé pendant que l'agarose est fondu, puis retiré après sa solidification pour créer des puits où les échantillons sont chargés.

Après solidification du gel, celui-ci est placé dans un tampon électriquement conducteur entre des électrodes parallèles positives ((+) anode) et négatives ((-) cathode) Une tension est appliquée entre les électrodes, ce qui crée un champ électrique uniforme dans le gel. Les molécules dans les puits commencent à se déplacer sous l'influence du champ électrique : les molécules chargées positivement migrent vers la cathode (-) et les molécules chargées négativement migrent vers l'anode (+).

La vitesse de déplacement d'une molécule dans un champ électrique est déterminée par la force de sa charge électrique par rapport à son poids moléculaire. Cette force est quantifiée comme le rapport entre la charge et la masse. La vitesse de mouvement à l'intérieur d'un gel est également influencée par la taille de la molécule par rapport aux pores du gel. Les polymères dans le gel sont comme une course d'obstacles : les petites molécules se déplacent facilement à travers les pores, voyageant plus vite et plus loin que les grosses molécules volumineuses. Cependant, une grosse molécule peut se déplacer plus rapidement dans un gel qu'une petite molécule lorsque la force de sa charge par rapport à sa masse est nettement plus élevée. La forme peut également affecter la façon dont une molécule se déplace à travers le gel. Les longues molécules de type spaghetti se déplacent plus lentement que les molécules compactes, qui se glissent facilement à travers les pores. Les molécules de même taille, de même forme et de même charge se déplacent ensemble et forment une bande distincte. Si plusieurs types ou tailles de molécules sont présents dans l'échantillon, ils se sépareront les uns des autres et chacun d'eux formera une bande distincte.



 theminione.eu

 +32 475 36 68 34

 info@theminione.eu

FastTaq, GreenGel et PrepOne sont des marques commerciales d'Embi Tec. GelGreen est une marque de commerce de Biotium. MiniOne est une marque déposée de C.C. IMEX.
Brevets en instance.