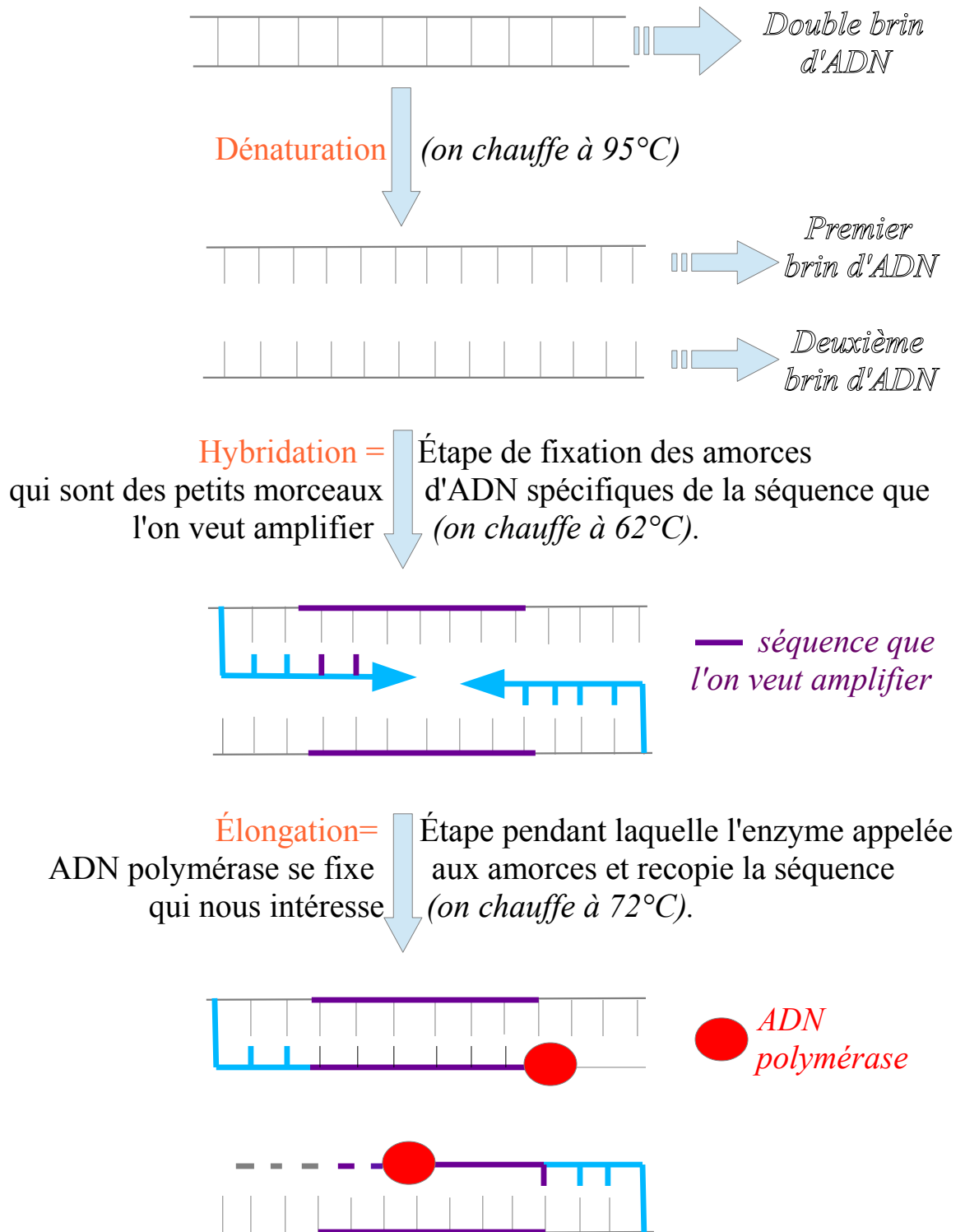
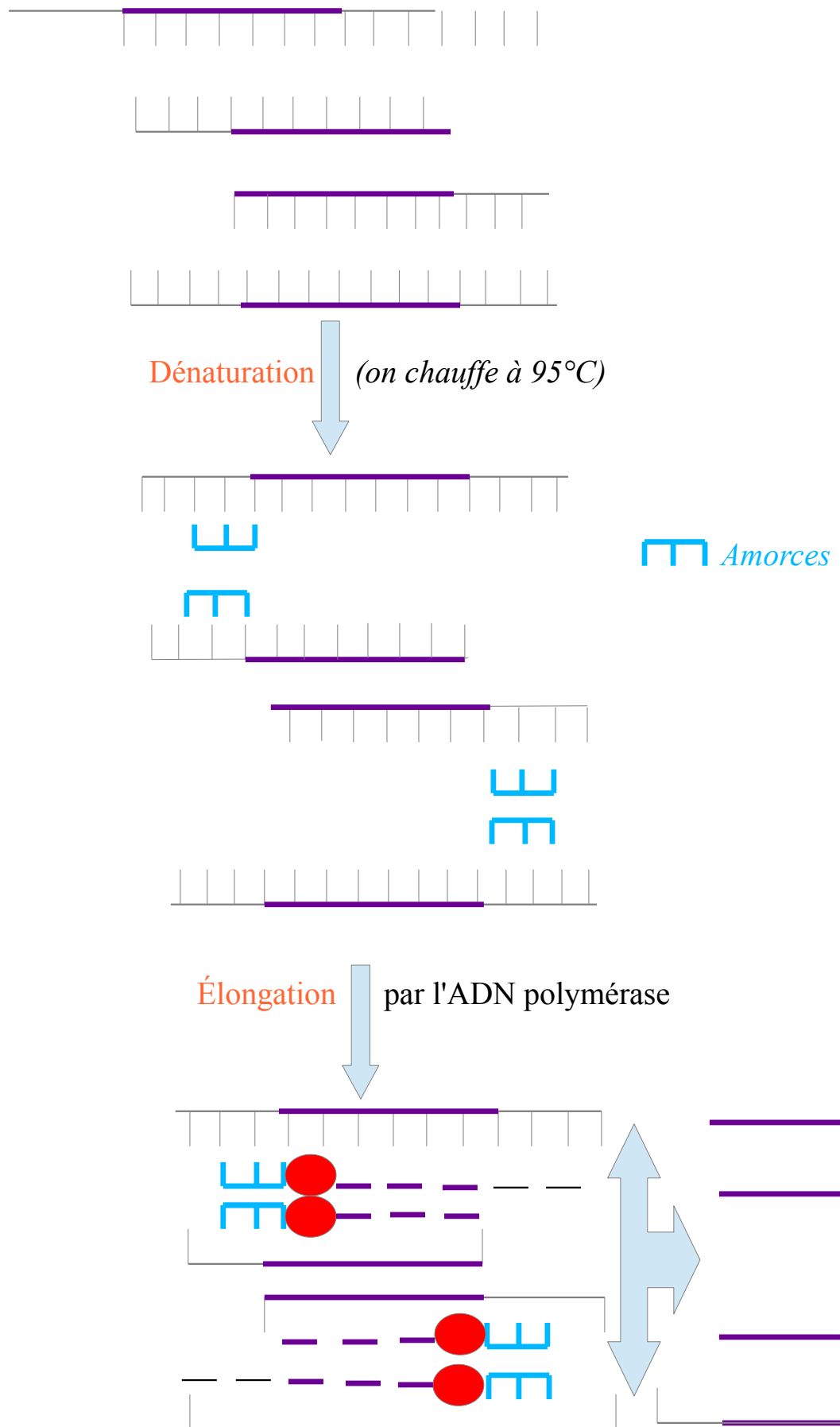


# LE PRINCIPE DE LA PCR

*Ce qui se passe dans le tube à essai*

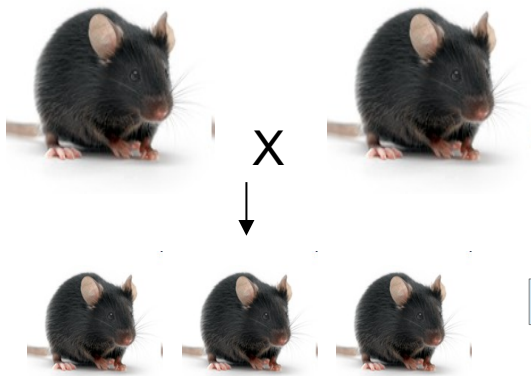




On répète au moins 30 fois ces étapes pour obtenir un très grand nombre de copies de notre séquence d'intérêt. (On pourrait dire que la PCR est une photocopieuse à ADN).

# CE QU'IL FAUT FAIRE AVANT LA PCR

## Génotypage de souris



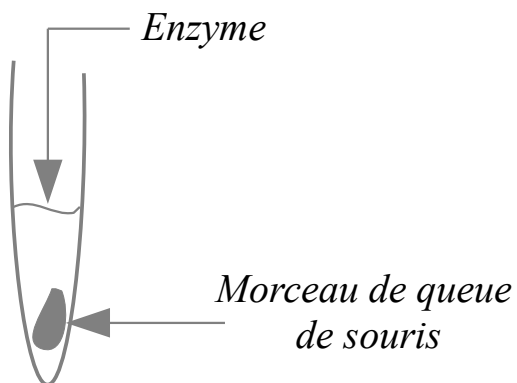
Les parents ont été choisis par rapport à leurs caractéristiques génétiques. (Porteur d'une mutation ou de l'allèle sain).

**Questions:** *quelles souris parmi la portée portent le gène ou la mutation?*

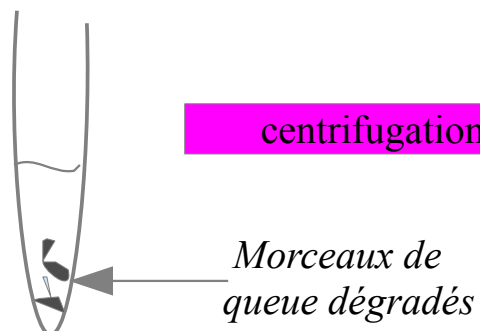
### POUR CELA IL FAUT:

Récupérer des petits morceaux de queue de souris pour extraire l'ADN:

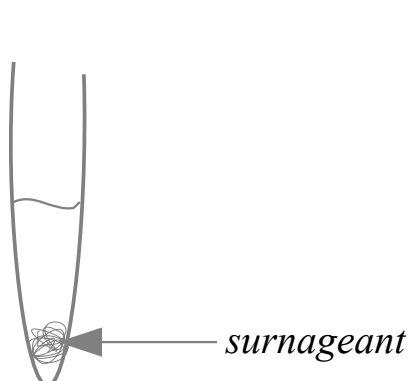
Extraction d'ADN



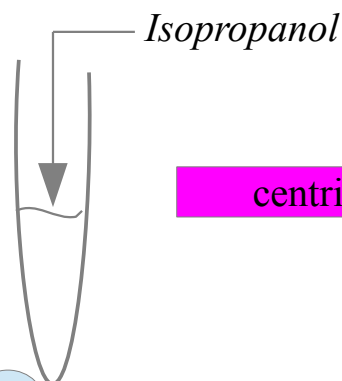
1 Digestion avec une enzyme (à 55°C toute une nuit au bain marie).



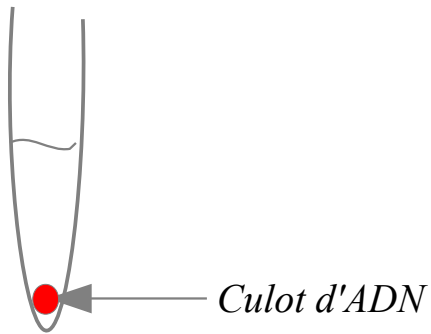
2 Les morceaux de queue de souris sont dégradés (déchets).



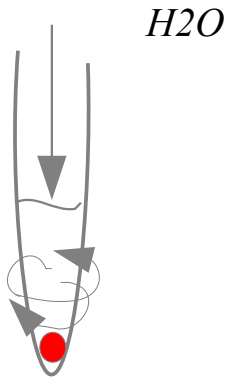
3 On récupère le surnageant qui contient l'ADN, le culot qui contient les déchets sera jeté.



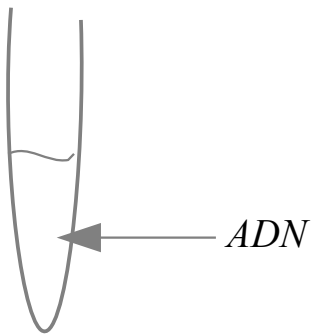
4 On fait précipiter l'ADN en ajoutant de l'Isopropanol au Surnageant récupéré.



- 5 On jette le liquide pour ne garder que l'ADN.

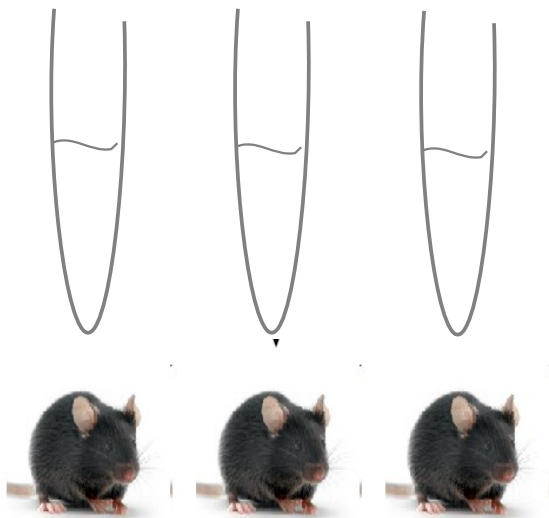


- 6 On ajoute de l'eau pour récupérer de l'ADN c'est-à-dire le dissoudre.



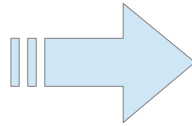
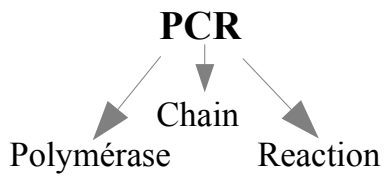
- 7 Le culot contient donc l'ADN d'une souris.

*PCR sur l'ADN obtenu*



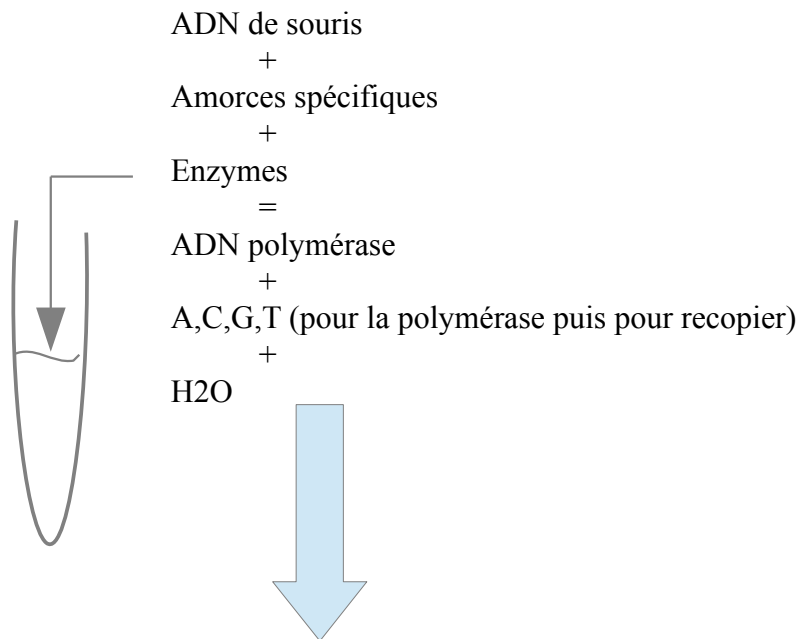
*Tubes contenant les ADN des souris que je veux génotyper.*

*On fait donc la PCR:*



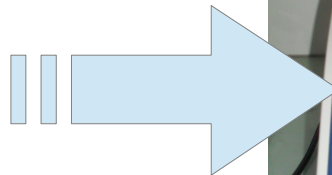
Expérience qui permet d'amplifier c'est à dire de copier un grand nombre de fois une séquence d'ADN spécifique (que l'on a choisie) pour pouvoir la détecter, l'étudier).

**➡ Début de la PCR:**

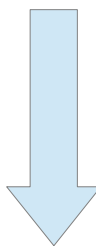


On place ce tube dans une machine appelée thermocycleur qui chauffe à différentes températures (95°C, 62°C et 72°C au moins 30 fois).

*Thermocycleur*



*(J'ai pris cette photo durant mon stage)*



A la fin dans notre tube on aura un très grand nombre de copies de notre séquence.

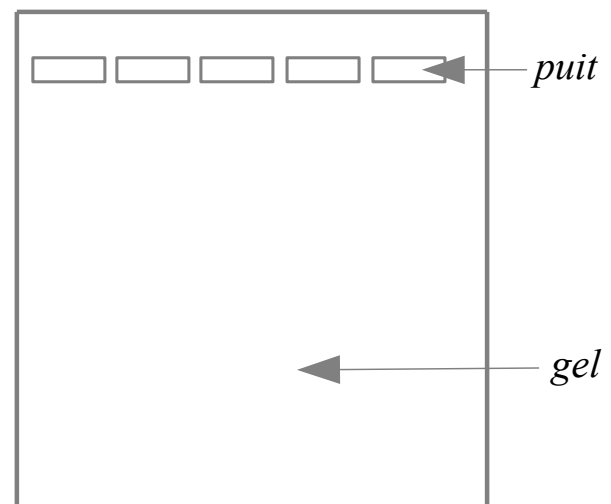
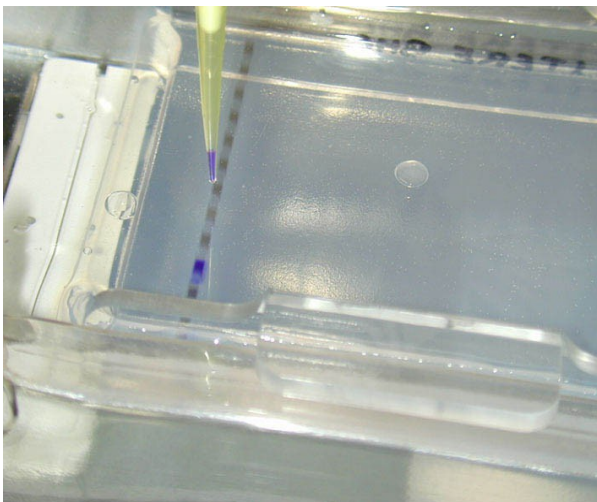


— Séquence d'ADN

### ➡ **ELECTROPHORESE** sur gel d'agarose:

Maintenant qu'on a amplifié notre séquence on veut en vérifier la taille. Car la version (l'allèle) « malade » est plus grande que l'allèle « non malade » chez nos souris. L'électrophorèse nous permet de séparer nos petits morceaux d'ADN en fonction de leur taille.

#### 1 Préparation du gel:



#### 2 On dépose la PCR dans les puits du gel:

3 Migration:

Grâce à un courant électrique les morceaux d'ADN vont migrer dans le gel. Les fragments les plus grands vont migrer moins vite que les petits car le gel est constitué de mailles (comme un filet). Les fragments de petites tailles traversent donc plus facilement que les gros.

4 Révélation:

On place le gel dans une machine qui permet d'observer les bandes qui correspondent à nos petites séquences d'ADN.

5 Voici le résultat obtenu:

