

## ÉLECTROPHORESE D'ADN

### Principe de l'électrophorèse d'ADN

*En milieu basique, les molécules d'ADN sont chargées négativement. Soumises à un champ électrique, elles migrent, dans un gel conducteur, de la cathode (borne négative) vers l'anode (borne positive). La distance de migration par rapport à la ligne de dépôt est caractéristique de la taille et de la charge de la molécule.*

### Préparation de la cuve

1. **Poser** la cuve sur le papier noir (les puits dans le gel seront plus visibles).
2. **Placer** le gel dans la cuve sans le casser, bien parallèlement aux côtés de la cuve, les puits devant être du côté de la cathode (borne négative).
3. **Verser** le tampon TBE dans les deux compartiments de la cuve, le gel doit être tout juste recouvert (environ 1mm au dessus du gel).

### Dépôts d'ADN

ATTENTION Il faut réaliser les dépôts en stabilisant le mouvement par calage des coudes sur la paille et veiller à ne pas percer le fond du puits et à changer les embouts entre chaque dépôt.

4. **Déposer** avec une micropipette une solution d'ADN dans un puits sans débordement : la cuve utilisée nécessite un volume d'ADN de   $\mu\text{L}$ .
5. **Déposer**, de la même manière, dans un deuxième puits à côté du précédent la deuxième solution d'ADN.
6. Si le dépôt ne paraît pas satisfaisant (débordement par exemple), un second essai peut être réalisé dans les puits situés à côté. Dans ce cas, bien **repérer** les puits conservés pour l'électrophorèse.

### Mise en route et migration

**(la migration doit avoir lieu juste après les dépôts)**

7. **Brancher** la cuve au générateur et **faire migrer** à 100 volts. Le pôle négatif (= cathode) doit être du côté du dépôt.
8. **Vérifier** le bon déroulement de l'électrophorèse : de la buée doit apparaître sur le couvercle dans les cinq premières minutes si le générateur et la cuve sont bien alimentés.