

Chapitre 7 : biologie moléculaire

Introduction

Propriétés physico-chimiques de l'ADN

Pr. Julien Fauré

Plan et objectifs du cours

Taille , masse, charge

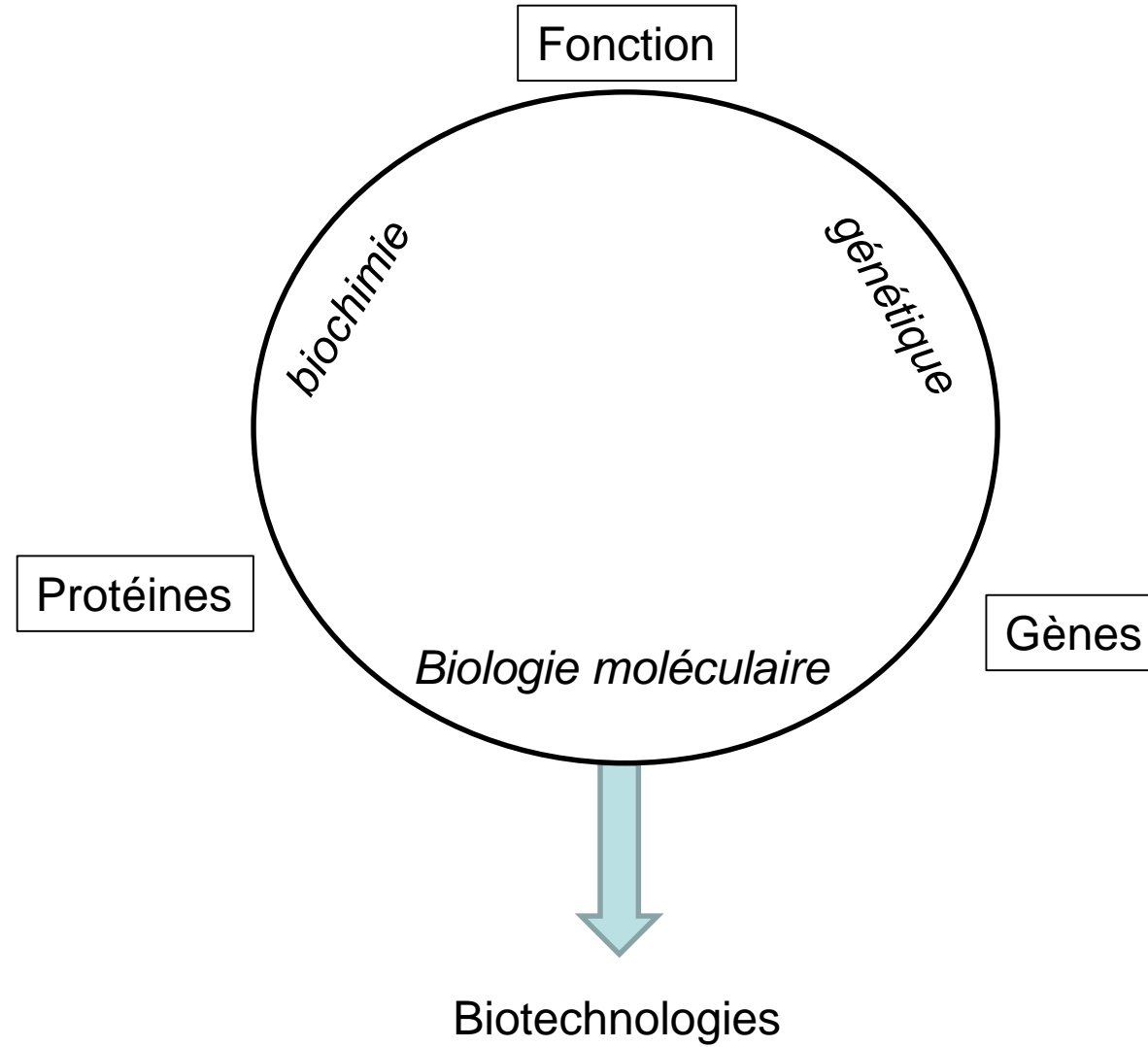
Absorption

Dénaturation /renaturation

Dégradation

Purification

Introduction



Taille, masse et charge

Taille et masse :

	ADN d'une cellule		
	taille	masse	longueur
adénovirus	$\approx 35 \cdot 10^3 \text{ pb}$	$\approx 10^7 \text{ Da}$	$\approx 1,1 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
E. coli	$\approx 3,5 \cdot 10^6 \text{ pb}$	$\approx 10^9 \text{ Da}$	$\approx 1,3 \cdot 10^{-3} \text{ m}$
homme	$\approx 2 \times 3 \cdot 10^9 \text{ pb}$	$\approx 10^{12} \text{ Da}$	$\approx 2 \text{ m}$

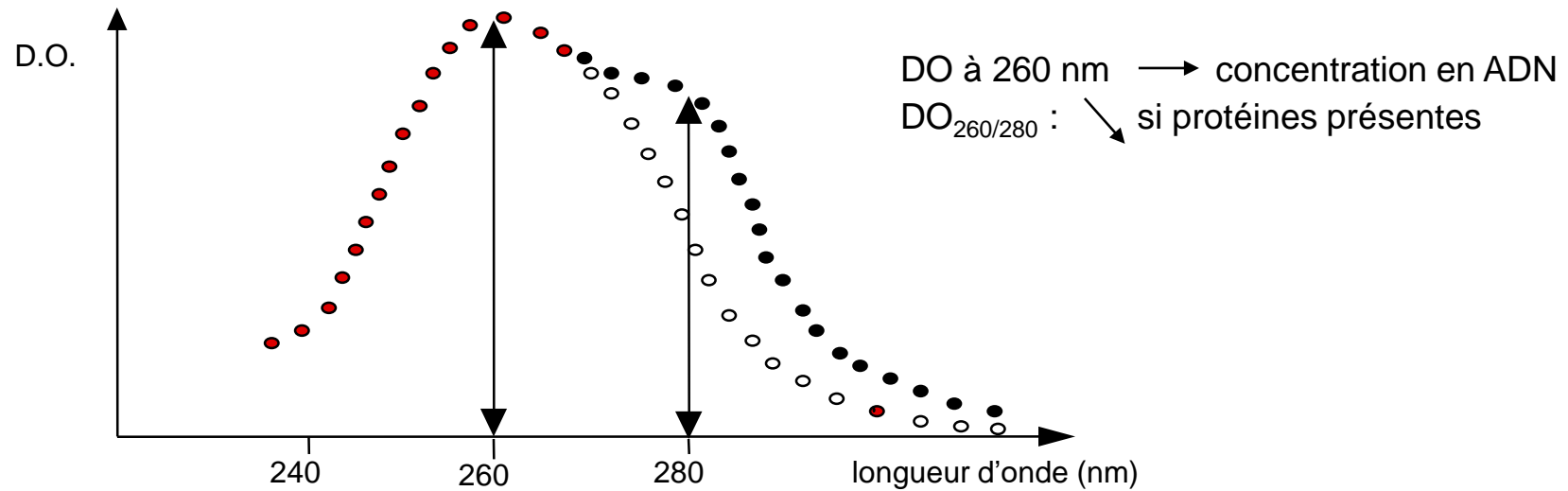
1 kpb = 1000 pb, 1 Mpb = 1 000 000 pb...

Masse moléculaire moyenne d'une paire de base : 618 g/mol

Charge électrique : l'ADN et l'ARN sont chargés négativement en raison des groupes phosphates. Placées dans un champ électrique (électrophorèse), ces molécules migreront vers le pôle + (anode).

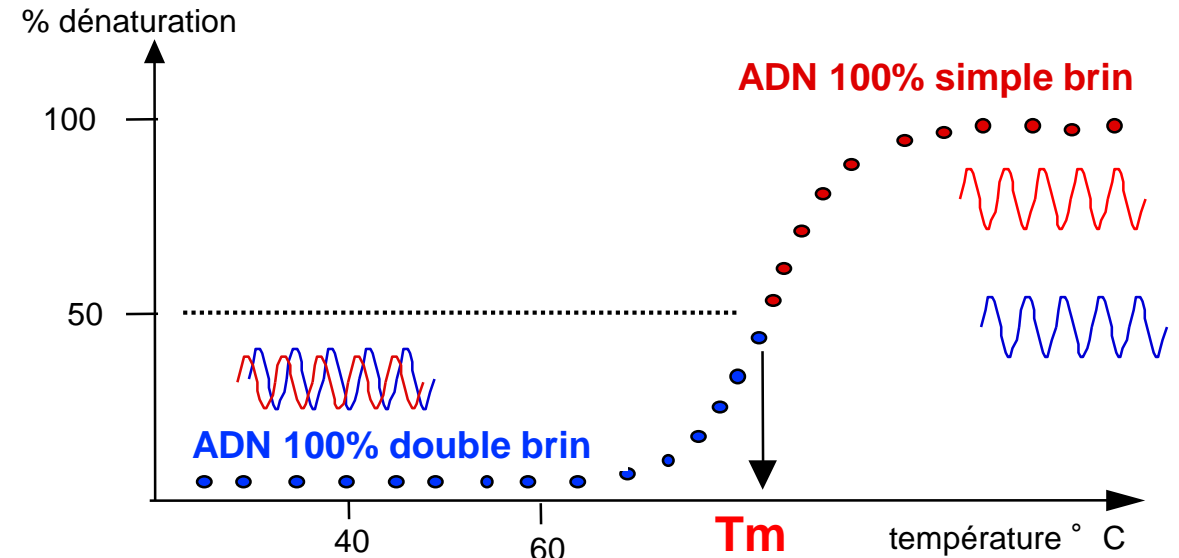
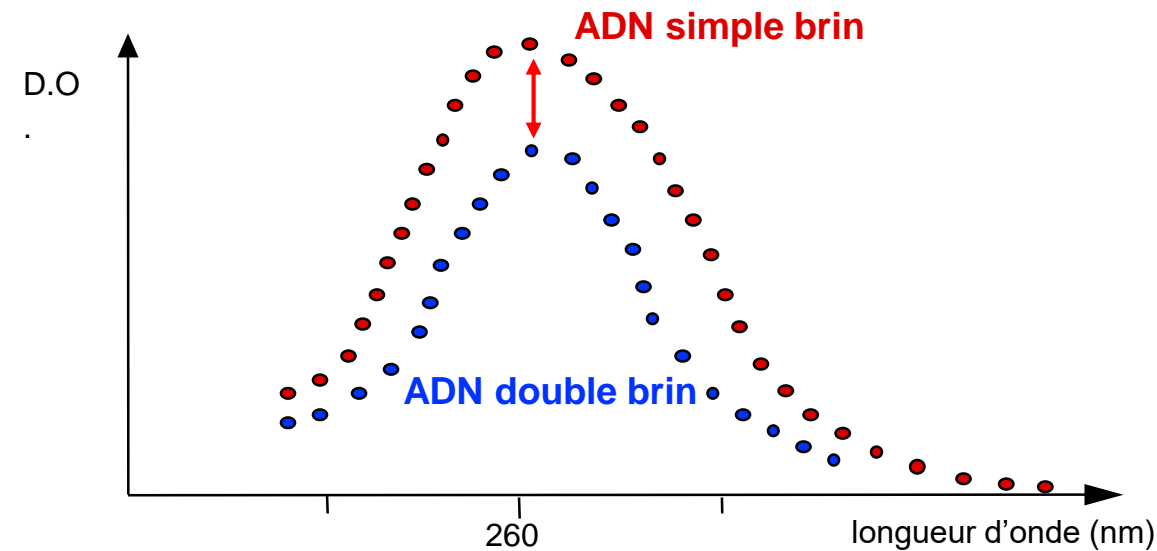
Absorption

Absorption : les bases A, T, G, C, U ont une absorption maximale à ≈ 260 nm

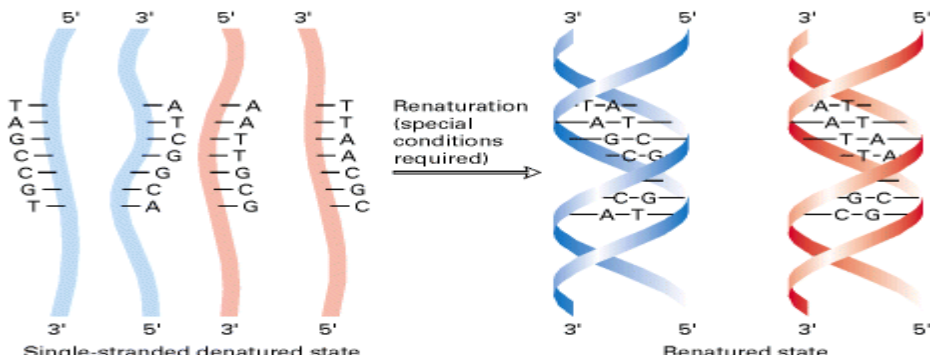


Dénaturation / Renaturation

- ❖ Dénaturation :
 - température, pH, agents chaotropes
 - modulée par taille du fragment, % GC, force ionique du milieu
 - effet hyperchrome, température de fusion



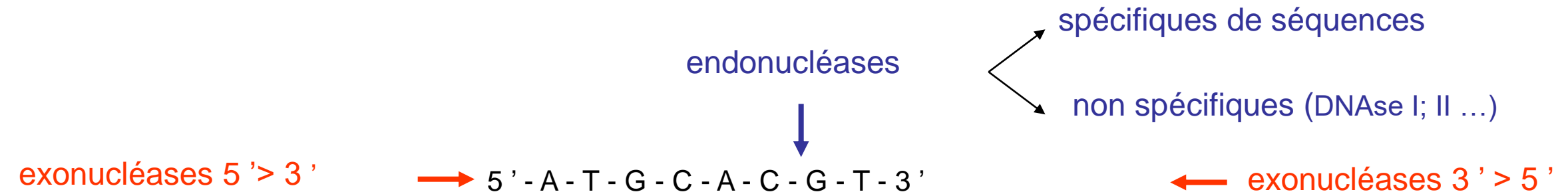
- ❖ Renaturation : réappariement spontané des 2 brins complémentaires d'ADN



COT (concentration over time)
paramètre définissant la renaturation

Dégradation

6.2. Coupures enzymatiques



Purification

Extraction et purification du matériel génétique

- matériel présent dans les virus, les bactéries et les cellules
- ADN des cellules eucaryotes animales = ADN nucléaire + ADNmit
 - source : sang, tissus (biopsies), cultures cellulaires...
 - chez l'homme $\approx (2 \times 3 \times 10^9) \times 618 / 6,02 \times 10^{23} \approx 6-7 \times 10^{-12}$ gramme /cellule
 - └→ 1 ml de sang $\approx 5-6 \times 10^6$ leucocytes soit $\approx 30 \times 10^{-6}$ g d'ADN
 - et $\approx 10^{14}$ cellules dans le corps humain soit ≈ 600 g d'ADN !
- ARN = ARNm, ARNt, ARNr, petits ARN fonctionnels
 - sensibilité aux RNAses
 - spécificité tissulaire des ARNm

Purification

prélèvement biologique



lyse des cellules nucléées



dégradation des protéines



extraction des acides nucléiques



précipitation de l'ADN

- lyse par détergents
- traitement mécanique

- traitement par la protéinase K

- solvants organiques
- agents chaotropiques
- fixation par interaction de charges

- alcools

Principales étapes de la purification des acides nucléiques

Mentions légales

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.