



## EXPLOITATION D'UNE ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE



### Travaux des Actions Académiques Mutualisées

Niveau

• Première STL Biotechnologies

Thème du programme

• Séparer des biomolécules par électrophorèse sur gel d'agarose

Situations pédagogiques

• Séance de TP-TD.

Liens internet

- <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/bioch1.htm>
- <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/8TPmethodologie/5Electrophorese/1Electrophorese.htm>
- <http://www.dnalc.org/resources/animations/gelelectrophoresis.html>

Compétences B2i

- Domaine 1 : s'approprier un environnement informatique de travail
- Domaine 3 : créer, produire, traiter, exploiter des données
- Domaine 4 : s'informer et se documenter

Matériels TICE

- Un poste PC par binôme
- Une connexion internet
- Logiciel de traitement d'images et tableur

Mots clés

- Electrophorèse
- ADN
- Agarose

Approfondir

Donnez-nous votre avis sur ce scénario en remplissant le questionnaire suivant :

[Enquête élèves](#)

[Enquête professeur](#)

Merci



## Activité n° 1 : Séparation de fragments d'ADN par électrophorèse en gel d'agarose

### Objectifs

- Exploiter un document en ligne pour s'approprier le principe de la séparation de molécules d'ADN par électrophorèse.

### Durée conseillée

- 30 minutes

### Consignes

- Utiliser les informations disponibles à l'adresse suivante : [http://pedagogie.ac-montpellier.fr/disciplines/svt/adn\\_tp/electrop.htm](http://pedagogie.ac-montpellier.fr/disciplines/svt/adn_tp/electrop.htm)
- Vous y trouverez toutes les réponses aux questions ci-dessous



## Questions

- 1- Quelle est la charge électrique d'une molécule d'ADN ? Varie-t-elle avec sa taille ?
- 2- Quels sont les paramètres qui influencent la distance de migration d'un fragment d'ADN dans un gel d'agarose ?
- 3- En vous aidant de [l'animation flash proposée](#), expliquer le principe de la séparation de fragments d'ADN de taille différente par la technique d'électrophorèse.



## Activité n° 2 : Mesure des distances de migration des différents fragments d'ADN à l'aide du logiciel Mesurim

### Objectifs

- Utiliser le logiciel libre "Mesurim" pour mesurer les distances de migrations des différents fragments d'ADN qui ont migré dans le gel d'agarose

### Durée conseillée

- 30 minutes

### Consignes

- Utiliser [l'annexe 1](#) pour réaliser les mesures à partir de la photo numérique du gel.



## Questions

- 1-Quel est l'intérêt de faire migrer des fragments d'ADN de taille connue?
- 2-Comment varie la distance de migration d'un fragment d'ADN en fonction de sa taille ?
- 3-Quelle peut être l'influence du pourcentage d'agarose sur la distance de migration d'un fragment d'ADN ?



[Téléchargement de Mesurim](#)



[Télécharger la photo numérique du gel](#)



### Activité n° 3 : Calcul de la taille des différents fragments d'ADN à l'aide d'un tableur

#### Objectifs

- Utiliser un tableur type "Excel" pour calculer la taille des différents fragments d'ADN qui ont migré dans le gel d'agarose

#### Durée conseillée

- 30 minutes

#### Consignes

- Utiliser [l'annexe 2](#) pour construire un fichier permettant de calculer la taille des fragments d'ADN



### Questions

1-Quelle est la relation mathématique qui relie la taille d'un fragment d'ADN et sa distance de migration dans le gel d'agarose?

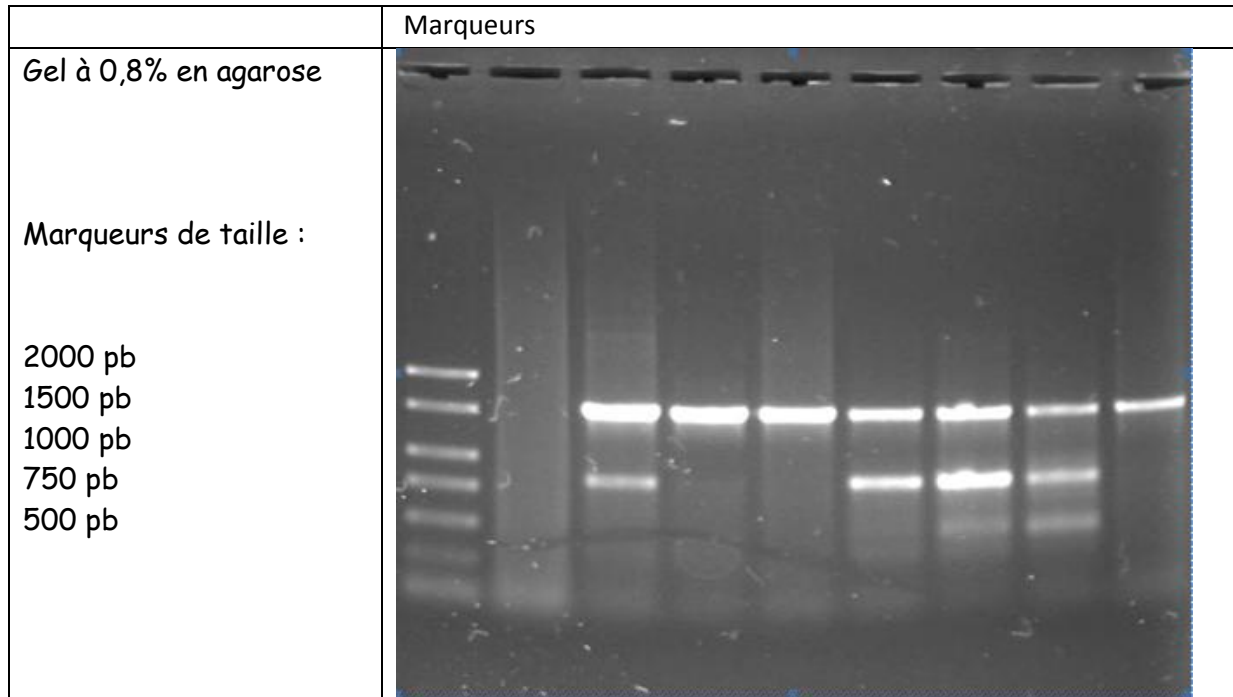
2-Quels sont les critères à prendre en compte pour choisir le type de marqueur ?



## ANNEXE 1

### UTILISATION DU LOGICIEL MESURIM POUR MESURER LA DISTANCE DE MIGRATION DES DIFFERENTS FRAGMENTS D'ADN QUI ONT MIGRE DANS LE GEL

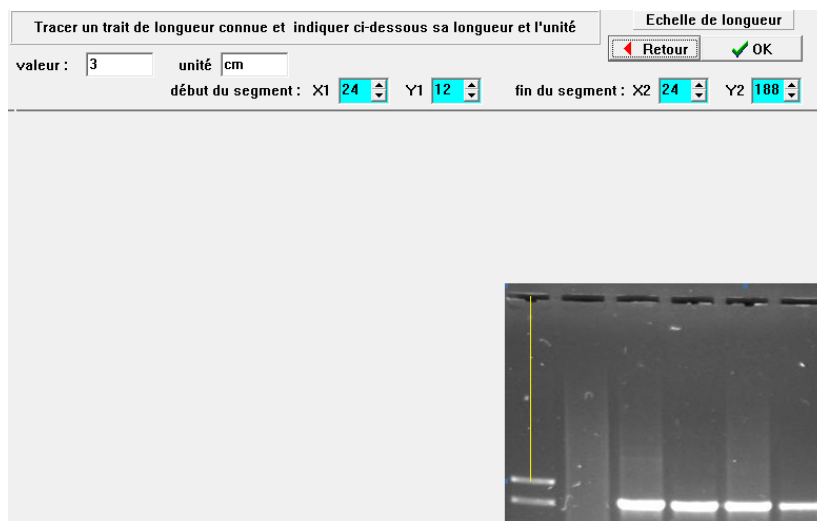
- *Le gel de départ*



Il faut disposer de la version numérique du gel

- *Traitement du gel dans Mesurim*

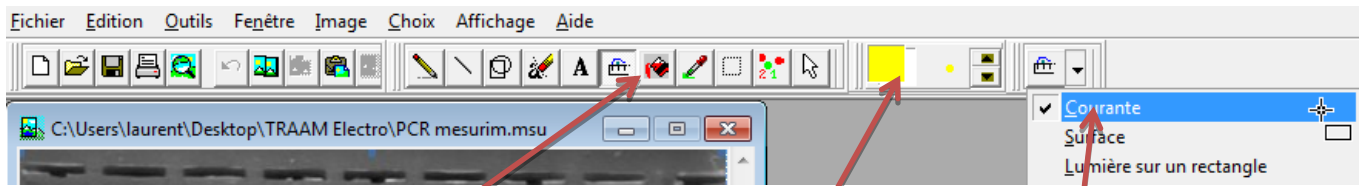
- ✓ Lancer le logiciel
- ✓ Ouvrir le fichier de la photo du gel : fichier\_ouvrir
- ✓ Régler l'échelle : Image\_Créer/modifier l'image
- ✓ Sélectionner : Echelle à définir
- ✓ Suivre les indications



- ✓ Enregistrer le nom de l'échelle dans le fichier



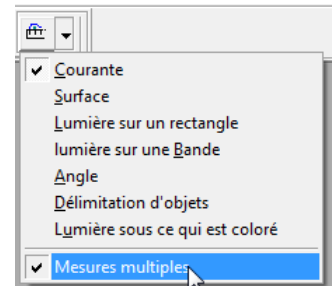
✓ Mesurer les distances de migration des différentes bandes :



Sélectionner l'icône « Mesure »

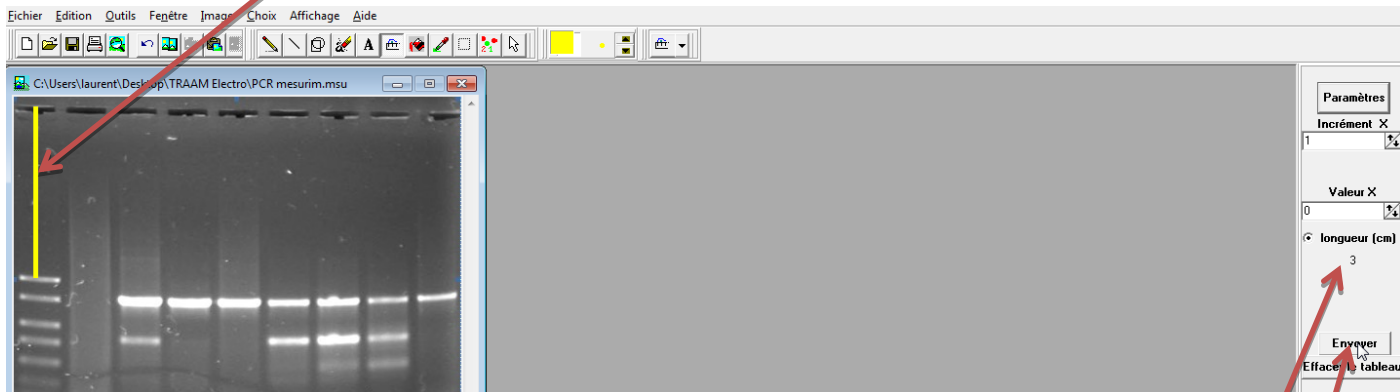
Régler la couleur

Choisir une mesure courante



Activer aussi les mesures multiples

Avec la souris, tracer un trait entre le puits de dépôt et la première bande



La valeur de la mesure apparaît

Cliquer alors sur « Envoyer »

Recommencer en prenant la mesure de la distance de migration des différentes bandes.

✓ Récupération du tableau des valeurs de mesure :  
sélectionner outil\_tableau

Avec le menu édition, il est possible de copier le contenu du tableau pour récupérer les valeurs dans un tableur

Bande	d
	cm
1	2,97
2	3,34
3	3,78
4	4,09
5	4,47
6	4,81
7	5,15

[Retour à l'activité 2](#)

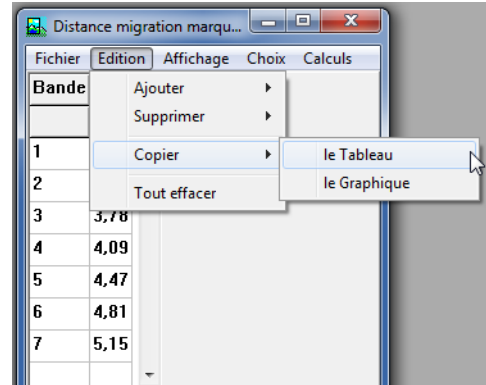


### ANNEXE 2

#### Construction d'un fichier pour calculer la taille des fragments d'ADN

##### ✓ Exploitation des marqueurs de taille

Dans la fenêtre tableau de « Mesurim »,  
Il est possible de copier les valeurs du tableau.



Ouvrir un fichier Excel et coller les valeurs du tableau Mesurim.

Saisir la valeur de taille de chaque fragment entrant dans la composition du marqueur utilisé

Calculer dans une autre colonne le LOG de la taille pour chaque bande

Dans notre exemple, on remarque que le fragment le plus petit (50 pb) n'est pas visible sur le gel

Marqueur de taille			
	Taille en paires de bases (pb)	Distance de migration (cm)	LOG (taille)
	2000	2,97	3,30
	1500	3,34	3,18
	1000	3,78	3,00
	750	4,09	2,88
	500	4,47	2,70
	300	4,81	2,48
	150	5,15	2,18
	50		1,70

#### Création du graphique $d=f(\text{LOG}(\text{PM}))$

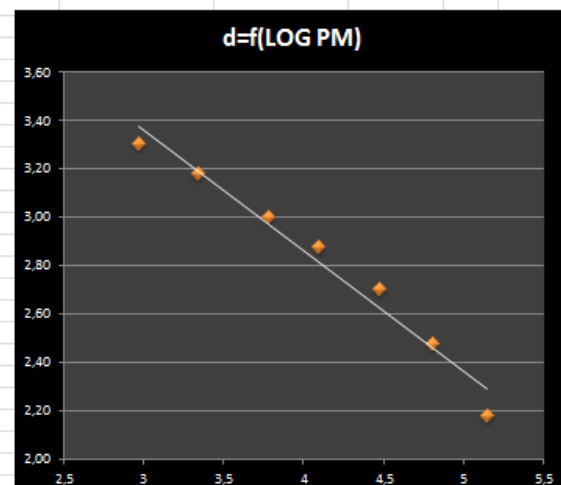
Calcul de la pente :

`=PENTE(C4:C9;D4:D9)`

Calcul de l'ordonnée à l'origine :

`=ORDONNEE.ORIGINE(C4:C9;D4:D9)`

Pente	-2,25
Ordonnée origine	10,49





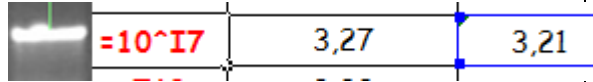
✓ *Utilisation des marqueurs pour déterminer la taille des autres fragments*

Réaliser la mesure des distances de migration des différentes bandes avec Mesurim. Reporter les valeurs.

Utiliser les valeurs calculées de la pente et de l'ordonnée à l'origine de la courbe d'étalonnage pour calculer le LOG(PM) de la bande

✓  $f_x = (H7 - \$C\$14) / \$C\$13$

Calculer alors la taille



Taille en pb	Distance de migration (cm)	LOG(taille)
1606	3,27	3,21
769	3,99	2,89
471	4,47	2,67

[Retour à l'activité 3](#)