

**TP 5 : Analyse sur gel d'agarose**

Cette technique permet de connaître l'intégrité d'une préparation d'ADN, séparer des fragments d'ADN d'une taille de 50 à 60 000 pb et déterminer la taille de chaque fragment ou d'évaluer la concentration en ADN.

Elle consiste à colorer l'ADN par le BET, qui s'intercale entre les bases de la double hélice et devient fluorescent après excitation par les ultra-violets. Plus le fragment d'ADN est long, plus la coloration émise est intense.

Pour faire une migration sur gel d'agarose :

**- on prépare un gel d'agarose à 1%.**

- Mélanger tampon TAE et agarose ;
- Faire bouillir la solution d'agarose ;
- Après refroidissement partiel du gel, ajouter 2ul de BET au gel ;
- Couler l'agarose dans le moule et puis insérer le peigne convenable.  
Lorsque le gel est refroidi et solidifié, on retire le peigne. Ceci créera des puits dans lesquels les échantillons pourront être déposés.

**- Préparation et dépôt des échantillons**

- Dans un tube mettre 8µl de l'échantillon et ajouter 3µl du colorant de chargement ;

- Déposer délicatement les échantillons, et noter son ordre ;
- Placer le gel dans la cuve et s'assurer qu'il est recouvert de tampon TAE 1X ;
- Brancher les fils et mettre le générateur de puissance sous tension à 100V pendant 30 min.

#### - **Révélation des bandes d'ADN**

**Attention**, le gel doit être manipulé avec soin car il est très fragile.

La visualisation est réalisée sur transilluminateur UV muni d'un appareil Polaroid pour déterminer le profil et la taille des bandes obtenues.