

## Méthodes d'étude des acides nucléiques

### 1° Préparation préliminaire :

#### 1.1. Lyse de la cellule :

- Les moyens mécaniques :
  - chocs thermiques.
  - broyage.
  - sonication : usage des ultrasons.
- Les moyens chimiques :
  - utilisation de composés organiques : solubilise les lipides.
  - utilisation des enzymes.

#### 1.2. Séparation des éléments :

- Les méthodes mécaniques :

L'ultracentrifugation, séparation par densité.

- Les méthodes chimiques :
  - précipitation par les solutions salines : le relargage.
  - précipitation par le couple éthanol / acide.

### 2° Dosage des acides nucléiques :

#### 2.1. Dosages colorimétriques dans le visible : 400à 800 nm

- mise en évidence du phosphore.
- mise en évidence du pentose.

#### 2.2. Dosages colorimétriques UV :

Mise en évidence des cycles des bases puriques et pyrimidiques.

### **3° Moyens qualitatif de mise en évidence :**

#### **3.1. Technique de Feulgen :**

Elle colore l'ADN en rose. Il casse la liaison diester et libère la Fuschine acide + l'éthanol.

#### **3.2. Le test de Bracet :**

Il met en évidence l'ADN avec le vert de méthyle.

### **4° Identification et séparation de ses molécules :**

#### **4.1. Usage de la radioactivité :**

On réalise un marquage par un isotope radioactif  $H_3$  ou  $P_{32}$  et on réalise une chromatographie par gel de filtration ou d'exclusion.

#### **4.2. L'électrophorèse :**

Ils se chargent négativement et migrent donc vers le pôle positif. On révèle ensuite par le bleu d'éthidium qui donne en présence d'UV, une fluorescence orange.