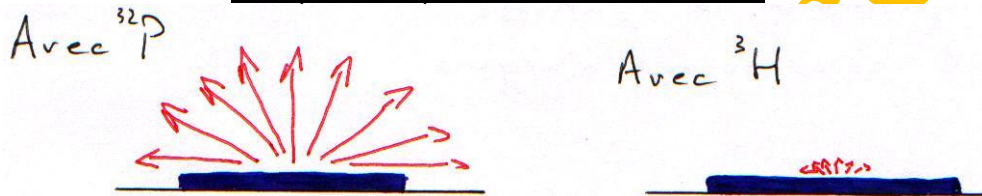


## Marquage des acides nucléiques.

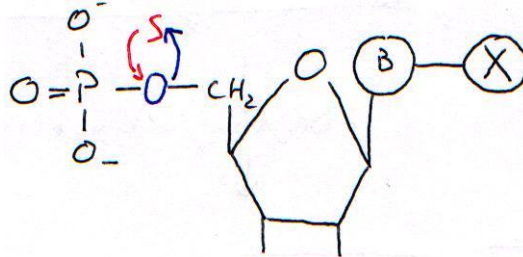
Le marquage le plus simple est le marquage radioactif. On peut réaliser celui-ci avec différents isotopes.

- L'isotope le plus classique est le  $^{32}\text{P}$ , d'une demi-vie de 14 jours et  $E=1,7$  MeV (très forte sensibilité).
- Le  $^{35}\text{S}$  : sa demi-vie est de 90 jours et  $E=0,17$  MeV. Il est moins sensible mais plus précis que le  $^{32}\text{P}$ .
- Le  $^3\text{H}$ , sa demi-vie est de 12 ans et  $E=0,02$  MeV.

Exemple avec hybridation sur chromosome.

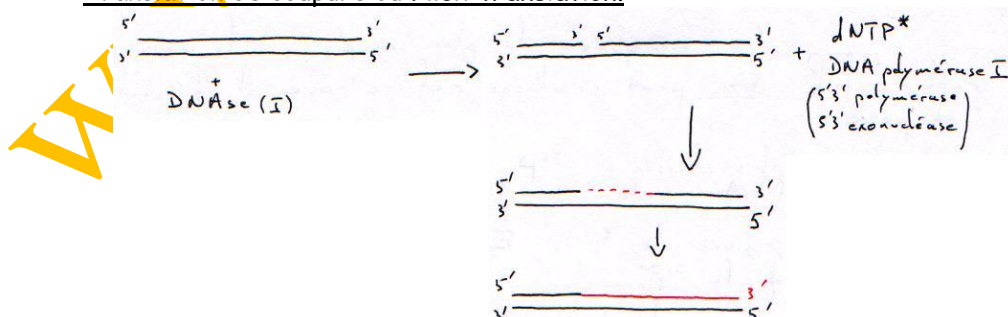


Pour placer un  $^{35}\text{S}$ , on l'insère à la place d'un O.



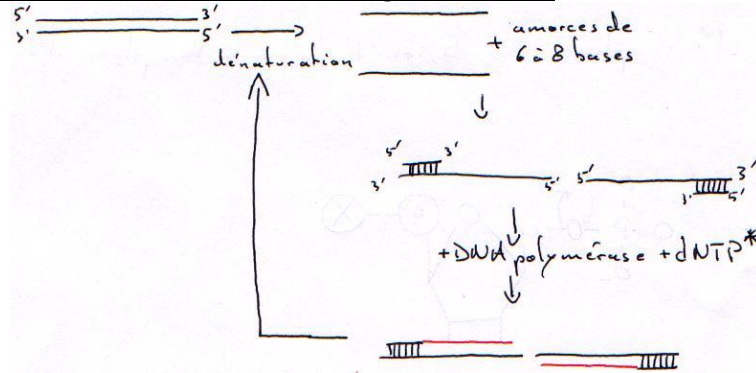
Pour les marquages froids, on rajoutera des morceaux que l'on peut colorer. Pour les marquages radioactifs, on peut partir de nucléotides triphosphates marqués.

- Translation de coupure ou *Nick translation*.



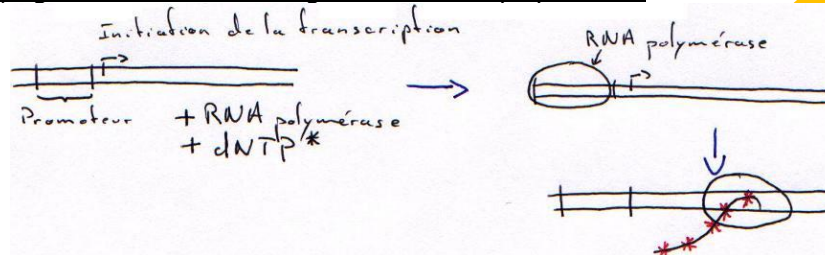
- Le phosphate doit être marqué en  $\alpha$  car les phosphates  $\beta$  et  $\gamma$  seront sortis pendant la synthèse.
- Les deux brins seront marqués.

- Technique de *Random Priming* (amorçage au hasard).

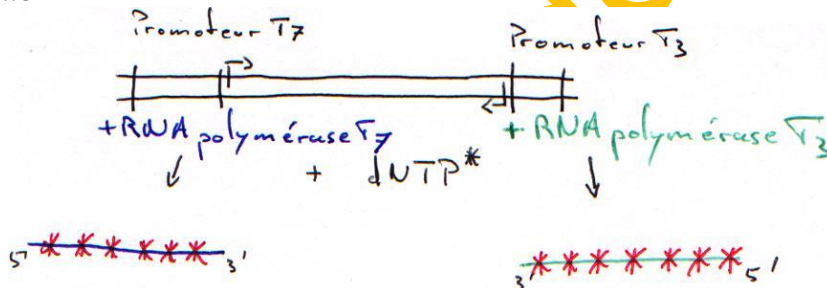


On part d'ADN double brin en forte concentration.

- Marquage d'ADN double brin grâce à la RNA polymérase.



Dans le cas de deux promoteurs différents sur le même génome, on a les résultats suivants :



Pour la transcription, le promoteur donne le sens de transcription et le brin transcrit.  
On peut marquer un acide nucléique en lui ajoutant un phosphore marqué radioactivement sur une extrémité.

- On fait d'abord agir une phosphatase pour enlever le phosphore non marqué.
- On fait ensuite agir une kinase avec de l'ATP marqué en  $\gamma$ . Le marquage se fera en 5'.