

Quiz – Préparation des échantillons pour le gel d'agarose

Les réponses sont disponibles à la fin de ce document.

On veut placer ce qui suit sur le gel d'agarose :

- Puits 1 – marqueur moléculaire (2 μ l)
- Puits 2 – 200 ng de l'ADN
- Puits 3 – 250 ng de l'ADN

Question 1 – En sachant que la concentration de l'ADN dosée au spectrophotomètre (nanodrop) est de 27 ng/ μ l, déterminer la quantité en μ l d'ADN qu'il faudra mettre dans chacun des tubes éventuellement placés dans les puits 2 et 3.

Question 2 – Déterminer le volume d'eau et de la solution de chargement nécessaire, si on veut obtenir une concentration finale de 1 X de la solution de chargement et les volumes finaux suivants :

- Puits 2 – On utilise la solution de chargement qui a une concentration initiale de 2 X et un volume final de 15 μ l.
- Puits 3 – On utilise la solution de chargement qui a une concentration initiale de 6 X et un volume final de 15 μ l.

Réponses

Question 1

Puits 2

La concentration de l'ADN suite au dosage est de 27 ng/μl. Donc, si on met 1 μl d'ADN dans le tube on aura 27 ng. Il faut alors déterminer la quantité de μl à mettre dans le tube 2 si on veut obtenir 200 ng.

$$\frac{27 \text{ ng}}{200 \text{ ng}} = \frac{1 \text{ } \mu\text{l}}{x \text{ } \mu\text{l}}$$

$$x \text{ } \mu\text{l} = \frac{200 \text{ ng} \times 1 \text{ } \mu\text{l}}{27 \text{ ng}}$$
$$= 7,4 \text{ } \mu\text{l}$$

On procédera de la même façon pour le puits 3 (250 ng).

Il faudra ajouter 9,25 μl d'ADN dans le tube 3.

Question 2

Puits 2

Le volume final est de 15 μl. On doit déterminer la quantité de solution de chargement à mettre dans le tube avant de déterminer la quantité d'eau.

Volume de la solution de chargement

$$\begin{aligned} C_1 &= 2 \text{ X} & C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\ C_2 &= 1 \text{ X} & V_1 &= \frac{C_2 \times V_2}{C_1} \\ V_1 &= ? & & \\ V_2 &= 15 \text{ } \mu\text{l} & &= 7,5 \text{ } \mu\text{l} \end{aligned}$$

Volume d'eau

Le volume final est de 15 μl.

$$\begin{aligned}\text{Volume d'eau} &= \text{volume total} - (\text{volume d'ADN} + \text{volume de la solution de chargement}) \\ &= 15 \mu\text{l} - (7,4 \mu\text{l} + 7,5 \mu\text{l}) \\ &= 0,1 \mu\text{l}\end{aligned}$$

Puisque le volume d'eau à ajouter est très petit, il n'est pas nécessaire de l'ajouter.

Puits 3

On utilise les mêmes calculs pour le puits 3 en utilisant les données associées à cet exemple.

$$\text{Volume de la solution de chargement} = 2,5 \mu\text{l}$$

$$\text{Volume d'eau} = 3,25 \mu\text{l}$$