



RETARD SUR GEL (EMSA)

SCIENCE EN TÊTE BIOLOGIE 2021-2022

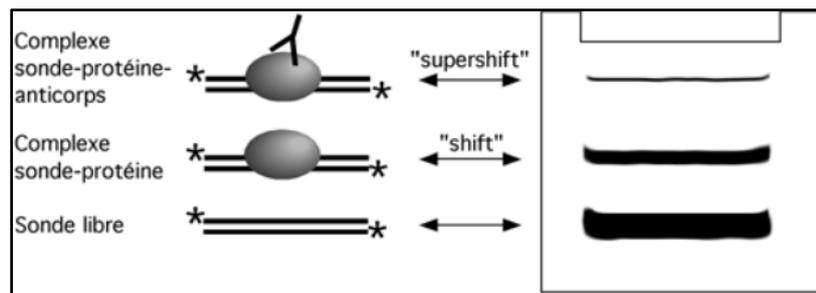
La méthode du retard sur gel permet déterminer in vitro la présence d'une interaction entre un ADN et une protéine (facteurs de transcription). Cela est mis en avant grâce à la migration des ADNs avec électrophorèse.

PRINCIPE

Cette méthode se base également sur le fait qu'un ADN « nu » migrera toujours plus rapidement qu'un complexe ADN-protéine. En effet, ils auront alors une taille moléculaire différents, ce qui permettra d'observer une différence de migration sur le gel d'électrophorèse. Le complexe ADN-protéine sera alors « retardé » par rapport à l'ADN libre.

Pour vérifier la spécificité de l'interaction observée, on pourra incubé avant l'ajout du complexe un anticorps spécifique à la protéine. Cela formera alors un super complexe, appelé « supershift », dont la mobilité dans le gel sera encore plus réduite que le complexe ADN-protéine.

Pour identifier les différentes migrations sur le gel, les sondes nucléotidiques sont marquées au ^{32}P .



Schématisation d'un résultat d'un gel d'électrophorèse avec la méthode EMSA

(<https://tice.agrocampus-ouest.fr/mod/glossary/showentry.php?eid=162>)

INTERETS ET INCONVENIENTS

Cette méthode peut alors s'adapter pour plusieurs sujets d'étude. En effet, des mutations peuvent être induites dans les sondes nucléiques, permettant ainsi de mettre en lumière les bases les plus importantes pour la liaison ADN-protéine.



Néanmoins cette pratique comporte également quelques inconvénients. Elle est longue de par l'extraction des protéines car il en faut une grande quantité au départ. De plus la manipulation d'éléments radioactifs rend l'opération encore plus délicate.

SOURCES

[1] <https://tice.agrocampus-ouest.fr/mod/glossary/showentry.php?eid=162>

[2] <https://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/7b.html>