

Qu'est-ce que la PCR ?



PCR : polymérase chain reaction ou réaction de polymérisation en chaîne. À partir d'échantillon peu abondant (ex: goutte de sang), cette technique permet de copier rapidement des séquences précises d'ADN en de très nombreux exemplaires. D'où son appellation de « photocopieuse ».

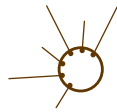
Utilisations de la PCR : analyse d'ADN en recherche, médecine (test diagnostique de maladie génétique, détection virale...), juridique (criminalistique, test de paternité), agroalimentaire (détection d'ingrédient, d'OGM), paléogénétique (ADN ancien ou fossile)...



1 Mélange des réactifs



• Échantillon d'ADN avec sa séquence cible, à recopier



L'ADN polymérase : enzyme qui reconnaît les amorces et assemble les nucléotides pour recopier l'ADN cible.



• Nucléotides (A, T, C, G)



• Les amorces : séquences d'ADN simple brin complémentaires de part et d'autre de la région à copier

2



Le mélange est soumis à des variations de températures rapides grâce au thermocycleur.

Il est programmé pour faire 20 à 40 cycles. Chaque cycle comprend 3 étapes.



Dénaturation : 94°C

Les brins d'ADN se séparent.



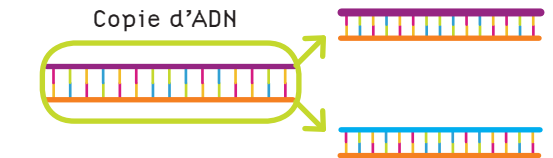
Les nucléotides s'assemblent par complémentarité : A face à T et C face à G.

Hybridation : 40-50°C

Fixation des amorces aux fragments d'ADN

Élongation : 72°C

Synthèse d'ADN par l'ADN polymérase, qui se fixe aux amorces et assemble les nucléotides.

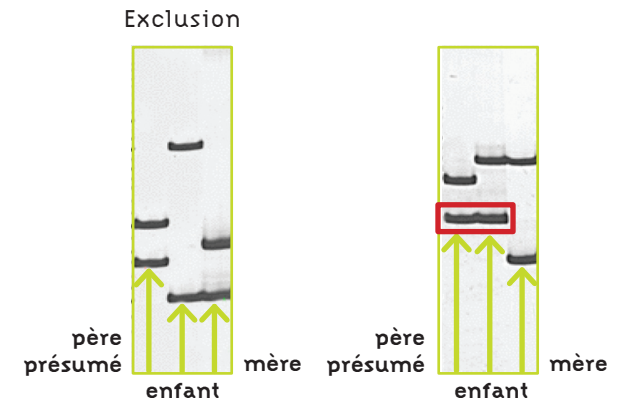


À chaque cycle, le nombre de copies est doublé.

En 30 ou 40 cycles, on obtient des millions de copies de la séquence cible.

3 Analyse des fragments obtenus par électrophorèse

Exemple du résultat d'un test de paternité



Limites de la technique :

- taille de la région cible limitée entre 100 et 8000 paires de bases

- s'il y a de l'ADN contaminant, même infime, dans l'échantillon, il est aussi amplifié et brouille les résultats.