



PCR -POLYMERASE CHAIN REACTION-

SCIENCES EN TETE BIOLOGIE-ANNEE 2020-2021

La PCR ou polymérase en chaîne est une technique de référence en biologie moléculaire, elle permet l'amplification d'un gène *in vitro*. C'est-à-dire la production d'un grand nombre de copie conforme d'ADN ou d'ARN à partir d'une faible quantité de séquence d'ADN connue allant jusqu'à quelque picogramme. Cette méthode repose sur l'activité de l'ADN polymérase, les caractéristiques de l'ADN.

1. DESCRIPTION DE LA METHODE

Toute la méthode repose sur la répétition des étapes ci-dessous qui forme un cycle. Nous avons besoin pour la réaliser de désoxyribonucléotides (dNTP), d'une enzyme polymérase résistante et active à des température élevée (Taq polymérase), d'amorces spécifiques de la séquence recherché et de l'échantillons d'ADN à tester.

Etape 1 : Dénaturation

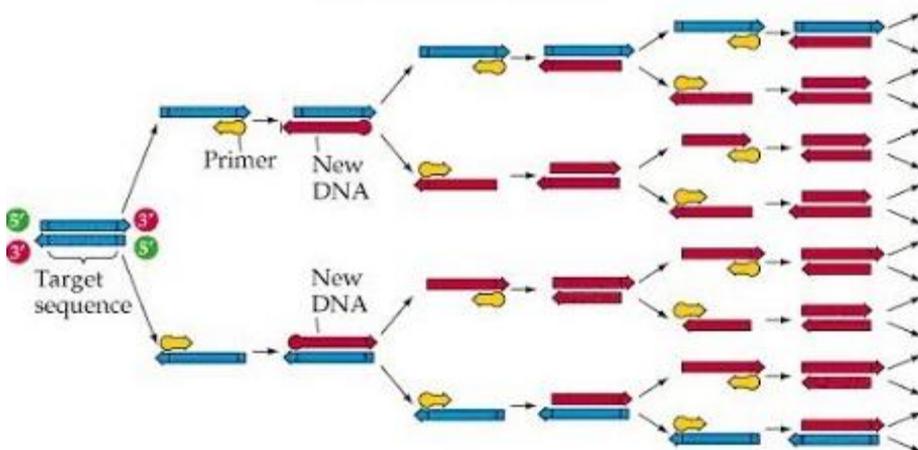
Premièrement, il faut chauffer environ à 95°C pour séparer les deux brins de la double hélice d'ADN. Et aussi d'exclure toutes interactions avec l'ADN polymérase.

Etape 2 : Hybridation

Deuxièmement, les amorces spécifiques à la séquence d'ADN à amplifier (l'amplicon) s'apparient à la séquence d'ADN on dit qu'elles s'hybrident à une température spécifique favorable (température de fusion) c'est-à-dire à une température où seul les amorce s'hybrident sinon les deux brins reformeront une double hélice d'ADN.

Etape 3 : Elongation

Dernièrement, on chauffe jusqu'à 75°C, la température optimale pour que la Taq polymérase soit active et puisse répliquer l'amplicon à partir des amorces d'ADN hybridé précédemment.



Après chaque cycle la quantité de l'amplicon augmente de 2^n , en générale on effectue 35 cycles cela signifie qu'à la fin nous avons 68 billions de copies.

Figure 1 : Les étapes d'un cycle de PCR [1]



2. APPLICATIONS

Les applications de la PCR touchent une multitude de domaines. En virologie, elle est utilisée pour le diagnostic des infections virales (VIH, coronavirus) ou bactérienne via l'amplification d'ADN pathogène qui permet la détection et le séquençage des gènes pathogènes présents dans l'échantillon. En génétique, elle permet de détecter des mutations génétiques. Mais l'application la plus répandue réside dans le domaine du génie génétique c'est-à-dire de la manipulation génétique et de l'ingénierie, ici elle est couplée avec plusieurs méthodes afin de cloner des gènes dans le but de les introduire dans un organisme pour qu'il puisse produire des protéines d'intérêt.

AVANTAGES ET INCONVENIENTS

Avantages	Inconvénients
Rapide	Risque de contamination (faux positif)
Sensible, spécifique	Amplification d'un ADN étranger

EN SAVOIR PLUS

Variante de la PCR : https://fr.wikipedia.org/wiki/Variantes_de_la_PCR

SOURCES

[1] https://fr.wikipedia.org/wiki/R%C3%A9action_en_cha%C3%AEne_par_polym%C3%A9rase#Techniques_associ%C3%A9es_%C3%A0_la_PCR

[2] Saiki RK et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988 Jan

[3] http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_ensavoirplus_lien_PCR_vf.pdf