

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

SCIENCES EN TÊTE BIOLOGIE-ANNÉE 2021-2022

La Polymerase chain reaction (PCR) est une technique de référence en biologie moléculaire permettant l'amplification d'un gène *in vitro*, c'est-à-dire la production d'un grand nombre de copies conformes d'ADN ou d'ARN à partir d'une faible quantité d'ADN connue allant jusqu'à quelques picogrammes. Cette méthode repose sur l'activité de l'ADN polymérase et les caractéristiques de l'ADN. ^[1]

1. PRINCIPE

La PCR repose sur la répétition des étapes ci-dessous sous forme de cycle. Elle se réalise à l'aide de désoxyribonucléotides (dNTP), d'une polymérase résistante et active à des températures élevées (Taq polymérase), d'amorces spécifiques de la séquence recherchée et d'échantillons de l'ADN à tester. ^[2]

- 1) **Dénaturation** : on chauffe à 95°C pour séparer les deux brins de la double hélice d'ADN et exclure toute interaction avec l'ADN polymérase.
- 2) **Hybridation** : les amorces spécifiques à la séquence d'ADN à amplifier (l'amplicon) s'apparient à la séquence d'ADN. Elles s'hybrident à une température spécifique favorable (température de fusion) où seules les amorces s'hybrident. Autrement, les deux brins reformeront une double hélice d'ADN.
- 3) **Elongation** : on chauffe à 75°C, la température optimale pour que la Taq polymérase soit active et puisse répliquer l'amplicon à partir des amorces d'ADN hybridées précédemment. ^[3]

Après n cycle, la quantité d'amplicons augmente de 2^n . Sachant qu'en général 35 cycles sont effectués, nous obtenons 68.10^9 copies. ^[1]

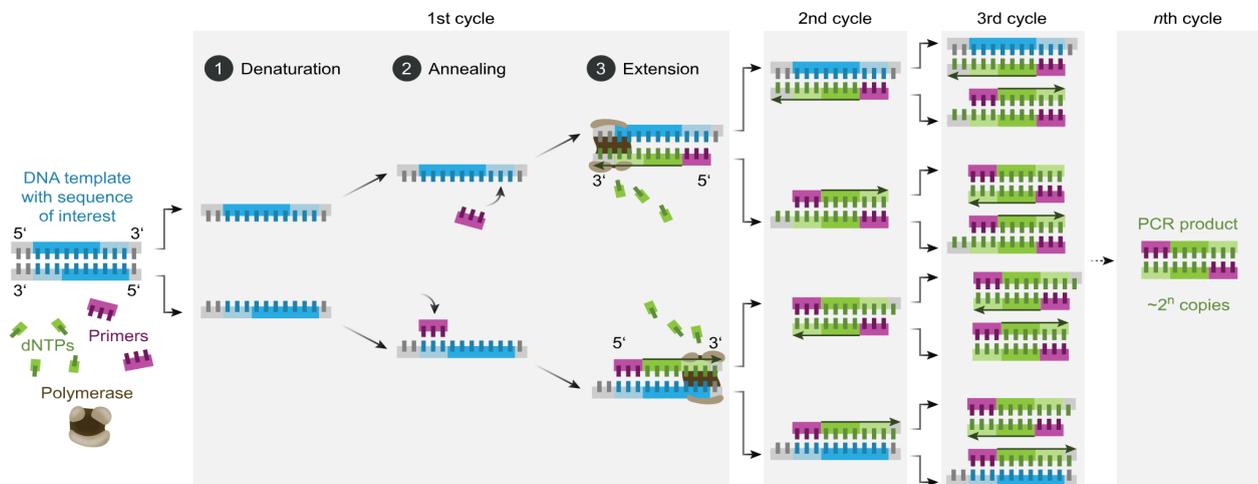


Figure 1 : Les étapes d'un cycle de PCR ^[1]



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

2. APPLICATIONS

Les applications de la PCR touchent de nombreux 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.
- En génie génétique, la PCR est couplée avec plusieurs méthodes afin de cloner des gènes dans le but de les introduire dans un organisme pour qu'il puissent produire des protéines d'intérêt. ^[2]

EN SAVOIR PLUS

Il existe de nombreuses techniques faisant usage de la PCR :

- **RT-PCR** : permet d'effectuer une PCR à partir d'ARN via une étape de rétrotranscription.
- **qPCR** : permet de réaliser une PCR quantitative avec de la fluorescence.
- **RAPD-PCR** : permet de réaliser une PCR sur de multiples endroits d'un génome.

SOURCES

[1] https://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction

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

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