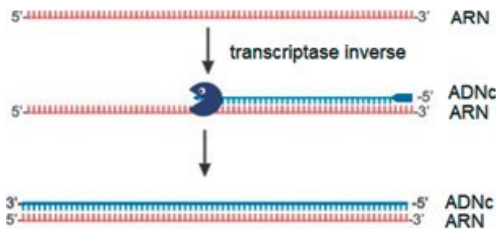


DOCUMENT 4 : principe de la RT-qPCR en temps réel avec détection des amplicons grâce à une sonde Taqman™

La RT-qPCR est effectuée à partir de l'ARN génomique du virus extrait et purifié.

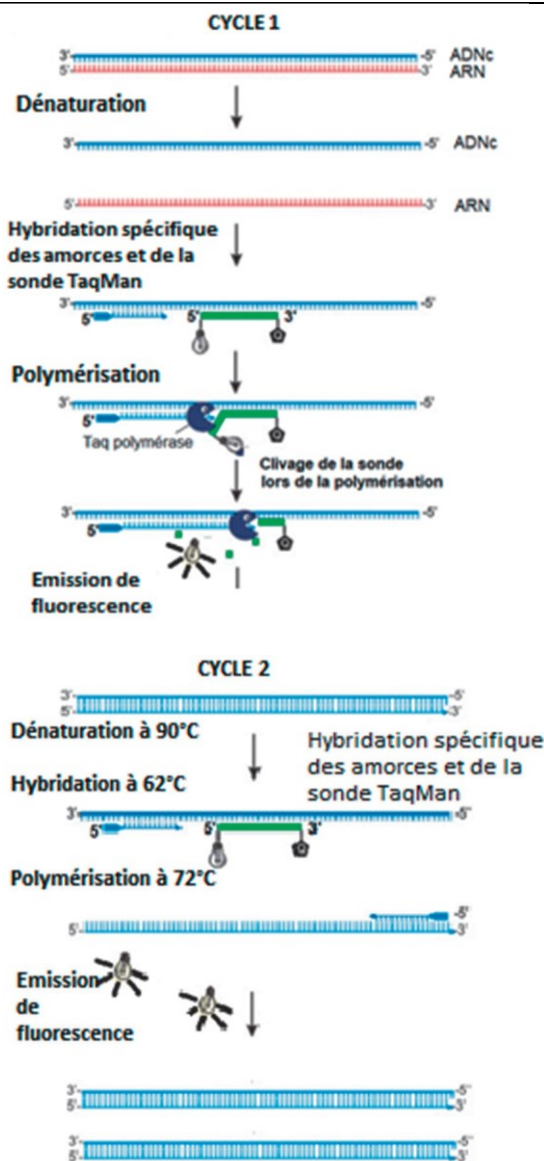
Source : adapté de S Bustin et R Mueller, *Clinical Science*, 2020

Étape 1 : rétrotranscription



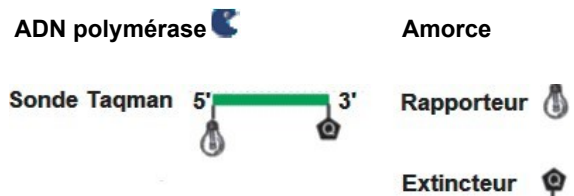
La transcriptase inverse est une enzyme capable de synthétiser un brin d'ADN complémentaire (ADNc) à partir d'un ARN matrice.

Étape 2 : PCR quantitative en temps réel



Le cycle 2 est répété 15 à 40 fois

Légende :



Une sonde TaqMan™, complémentaire d'une séquence ciblée du brin 3'→5' de l'ADN, contient une molécule fluorescente appelée « rapporteur » au niveau de son extrémité 5' et une molécule appelée « extincteur » au niveau de son extrémité 3'.

La sonde TaqMan™ est présente en grande quantité dans le mélange réactionnel. Tant que la sonde est intacte, la proximité entre le rapporteur et l'extincteur bloque l'émission de fluorescence du rapporteur. Lors de l'élongation de l'ADN par la Taq polymérase (polymérisation), la sonde est clivée, libérant ainsi le rapporteur qui émet alors de la fluorescence.

À chaque cycle de PCR, une sonde TaqMan™ se fixe sur chaque brin d'ADN monocaténaire 3'→5' obtenu à l'issue de l'étape de dénaturation. A chaque cycle de polymérisation, le processus de clivage qui se produit entraîne une augmentation de l'intensité de la fluorescence proportionnelle à la quantité d'amplicons produite.