

DOCUMENT 5 : séquence des amorces pour l'amplification d'une partie de l'ADN issu de la rétrotranscription de l'ARN viral.

Séquence d'ADN à amplifier

Seules les séquences de chaque brin d'ADN s'hybridant avec les amorces sont représentées. Les séquences internes de l'ADN à amplifier sont représentées par des tirets.

5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG ----- GAAAACTGGAACACTAAACATAGCA 3'
3' GCGTTCCAAGAAGAAGCATTTC ----- CTTTGTGACCTTGTGATTGTATCGT 5'

Séquences des amorces

Couples d'amorces proposés	Amorces « sens » <i>L'amorce sens s'hybride sur le brin 3'-5'</i>	Amorces « anti sens » <i>L'amorce anti-sens s'hybride sur le brin 5'-3'</i>
Couple 1	5' GCGTTCCAAGAAGAAGCATTTC 3'	5' CTTTGTGACCTTGTGATTGTATCGT 3'
Couple 2	5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG 3'	5' TGCTATGTTTAGTGTTCAGTTTTC 3'

Source : adapté de <https://www.sigmaaldrich.com/france/ncov-coronavirus.html>

Température de fusion (T_m) :

Formule de Wallace permettant le calcul de la température de fusion T_m d'une amorce en degrés Celsius :

$T_m = 2 \times (nA + nT) + 4 \times (nC + nG)$	nA = nombre de nucléotides « A » dans l'amorce nT = nombre de nucléotides « T » dans l'amorce nC = nombre de nucléotides « C » dans l'amorce nG = nombre de nucléotides « G » dans l'amorce
-------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Les deux amorces doivent avoir une T_m proche, l'écart entre les deux températures de fusion doit être inférieur ou égal à 2 °C.

Température d'hybridation des amorces (T_H) :

La température d'hybridation T_H de l'ADN cible doit être inférieure d'au moins 4 °C au T_m de chaque amorce.