### 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’ GGCGTTCCAAGAAGAAGCATTC ---------------- CTTTTGACCTTGTGATTTGTATCGT 5’**

**Séquences des amorces**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Couples d’amorces proposés | Amorces « sens »  *L’amorce sens s’hybride sur le brin 3’-5’* | Amorces « anti sens »  *L’amorce anti-sens s’hybride sur le brin 5’-3’* |
| Couple 1 | 5’ GGCGTTCCAAGAAGAAGCATTC 3’ | 5’ CTTTTGACCTTGTGATTTGTATCGT 3’ |
| Couple 2 | 5’ CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG 3’ | 5’ TGCTATGTTTAGTGTTCCAGTTTTC 3’ |

Source : adapté de [*https://www*](http://www.sigmaaldrich.com/france/ncov-coronavirus.html)*.sigma*[*aldrich*](http://www.sigmaaldrich.com/france/ncov-coronavirus.html)*.*[*com/france/ncov-coronavirus.html*](http://www.sigmaaldrich.com/france/ncov-coronavirus.html)

### Température de fusion (Tm) :

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

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

Tm = 2 x (nA + nT) + 4 x (nC + nG)

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

### Température d'hybridation des amorces (TH) :

La température d’hybridation TH de l’ADN cible doit être inférieure d’au moins 4 °C au Tm de chaque amorce.