

TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE (2) – AMPLIFICATION

Vocabulaire essentiel : amplification, amorce, dénaturation, hybridation, polymérisation, PCR, multiplexe

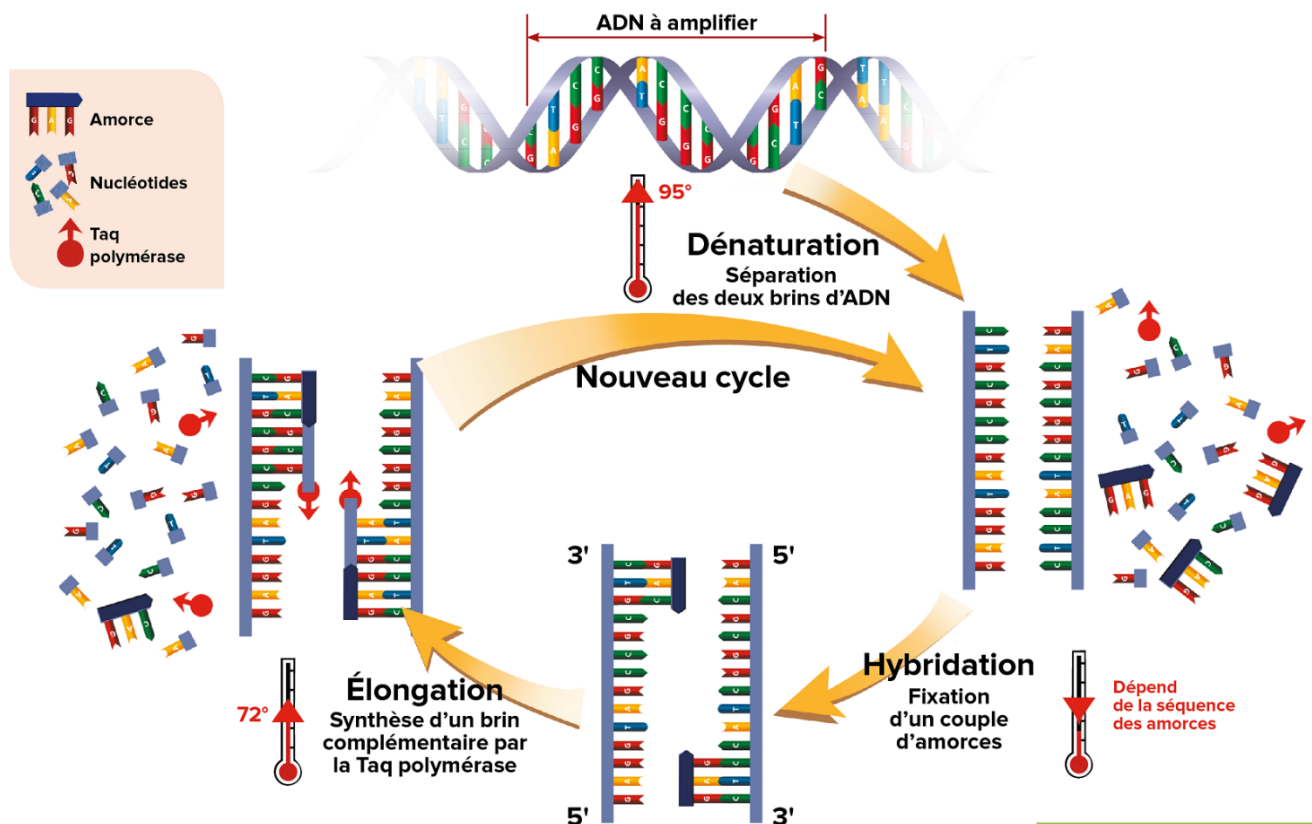
AMPLIFICATION DE FRAGMENTS D'ADN

L'amplification est la multiplication du nombre de copies d'un fragment ciblé de la molécule d'ADN afin de pouvoir procéder à son analyse. Un fragment est ciblé par une paire d'**amorces**, des séquences nucléotidiques de petite taille complémentaires du début et de la fin de la région d'intérêt. Le processus est alors le suivant (figure ci-dessous) : (1) l'ADN double-brin subit une **dénaturation** (séparation des deux brins), (2) il y a **hybridation** des amorces avec les brins d'ADN séparés et (3) une enzyme, la Taq polymérase, procède à la **polymérisation** du brin complémentaire à partir des nucléotides présents dans le milieu réactionnel (en d'autres termes, il y a élongation du brin complémentaire en partant des amorces). Pour chaque fragment d'ADN ciblé par une paire d'amorces, on obtient donc deux molécules d'ADN double-brin.

Afin d'obtenir de grandes quantités de fragments disponibles pour l'analyse, on réalise une **PCR (Polymerase Chain Reaction** ou Réaction cyclique d'amplification). Le processus d'amplification est alors répété plusieurs fois, les variations de température permettant le passage d'une étape à l'autre.

Il est également possible d'amplifier plusieurs régions de l'ADN au sein d'une seule réaction (réaction **multiplexe**). Il est alors nécessaire de s'assurer que les paires d'amorces sélectionnées ne s'hybrident pas avec plusieurs fragments ou régions et qu'elles n'interagissent pas entre elles.

Réaction cyclique d'amplification



© GNIS-PEDAGOGIE.ORG

Références supplémentaires :

Cours introductifs : <https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/>

Une fiche technique : <https://cbm.msoe.edu/markMyweb/ggpmResources/documents/pcrReview.pdf>