

Série 03

Exercice N°1 :

On se propose d'amplifier par PCR un fragment nucléotidique de 118 à 288 inclus dans la séquence suivante :

La taille des amorces est de 21 bases.

5'	GAATCCCACG	GTAAATTGGA	ACACAAGGAT	ATTCCAGTTC	CAAAGCCAAA	GGCCAACGAA	60
	TTGTTGATCA	ACGTTAAGTA	CTCTGGTGTC	TGTCACACCG	ACTTGACACG	TTGGCACGGT	120
	GACTGGCCAT	TGCCAGTTAA	GCTACCATTA	GTCGGTGGTC	ACGAAGGTGC	CGGTGTCGTT	180
	GTCGGCATGG	GTGAAAACGT	TAAGGGCTGG	AAGATCGGTG	ACTACGCCGG	TATCAAATGG	240
	TTGAACGGTT	CTTGTATGGC	CTGTGAATAC	TGTGAATTGG	GTAACGAATC	CAACTGTCCT	300
	CACGCTGACT	TGTCTGGTTA	CACCC	3'			325

1. Quel sera la taille du segment amplifié sans tenir compte des amorces ? En tenant compte de ces amorces ?
2. Indiquer la structure des amorces de 21 pb nécessaires pour amplifier le segment désigné.
3. Rappeler les critères de choix des amorces.
4. Calculer la température de fusion T_m de chaque amorce en utilisant la relation :
 $T_m = 2 \cdot (A+T) + 4 \cdot (G+C)$ en $^{\circ}C$ où le A est le nombre d'adénine, T de thymine, C de cytosine et G de guanine.

Exercice N°2 :

- Expliquer comment l'amplification par la PCR est un phénomène exponentiel et écrire la relation donnant le nombre de copies totales « N » en fonction de nombre de cycles « n ».

Exercice N°3 :

On veut amplifier une séquence d'ADN par PCR. Le fragment d'ADN amplifié mesure 320 pb. On parle de 100 ng d'un ADN génomique de $3 \cdot 10^9$ pb. Le rendement de la PCR est de 95%.

1. Quel est le facteur d'amplification de la PCR pour obtenir 1 μg du fragment de 320 pb ?
2. Combien de cycles de PCR devra-t-on faire ?