

Université de Jijel

Faculté de sciences et de la nature et de la vie

Département de biologie moléculaire et cellulaire

Licence biochimie

Module de GENIE GENETIQUE

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 CTCTGGTGTCT TGTACACACCG ACTTGACACGC TTGGCACGGT	120
	GACTGGCCAT TGCCAGTTAA GCTACCATTAA 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 Tm de chaque amorce en utilisant la relation :
 $Tm = 2 \cdot (A+T) + 4 \cdot (G+C)$ en $^{\circ}\text{C}$ 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 ?