

Éléments de correction TD2(Détecter, identifier, comprendre : la PCR au service des sciences du vivant)

1)

Question 1

Lien Yellowstone - PCR :

La bactérie *Thermus aquaticus* vit dans des sources chaudes (températures élevées). On en a isolé une **ADN polymérase thermostable** (Taq polymérase), capable de **résister aux températures de dénaturation (~95 °C)**.

Or la PCR impose de chauffer l'ADN à haute température à chaque cycle pour séparer les deux brins. Sans enzyme thermostable, l'ADN polymérase serait détruite à chaque cycle : il faudrait en rajouter en permanence. La **Taq polymérase** rend donc possible une PCR **automatisée, rapide et efficace**.

Question 2

Intérêt majeur : la PCR permet d'obtenir **un très grand nombre de copies** d'une séquence d'ADN **à partir d'une quantité initiale infime**, rendant possible l'analyse (diagnostic, identification, recherche de transgène, etc.).

2)

Question 3

Un cycle de PCR comporte 3 étapes :

1. **Dénaturation (~95 °C)** : séparation des deux brins d'ADN (rupture des liaisons H).
2. **Hybridation (~ 50–65 °C)** : fixation des **amorces** sur les brins matrices (appariement complémentaire).
3. **Élongation (~ 70–72 °C)** : la **Taq polymérase** allonge à partir des amorces et synthétise les brins complémentaires.

Question 4

Rôle des amorces et ciblage :

- Les **amorces** sont de courts fragments d'ADN **complémentaires** des extrémités de la zone à copier.
- Elles se fixent uniquement si la séquence cible est présente (complémentarité), ce qui permet de **délimiter précisément la "zone amplifiée"** (entre les deux amorces).
- Elles fournissent aussi une **extrémité 3'OH** indispensable : la polymérase ne peut commencer la synthèse qu'à partir d'une amorce.
-

Question 5

Modélisation (cas idéal) : à chaque cycle, chaque molécule d'ADN double brin sert de matrice et donne **deux** molécules double brin en fin de cycle.

- Soit N_n le nombre de molécules d'ADN **double brin** après n cycles.
- Relation de récurrence : $N_{n+1} = 2N_n$
- Avec la condition initiale N_0 (quantité au départ), on obtient : $N_n = N_0 \times 2^n$

Conclusion : comme N_n est proportionnel à 2^n , la croissance est **exponentielle**.

3)

a) Détection d'un transgène (doc 5)

Question 6

Principe de détection :

1. On extrait l'ADN de l'aliment.
2. On réalise une PCR avec des **amorces spécifiques du transgène** (ex. fragment attendu ~750 pb).
3. On fait une **électrophorèse** : si le transgène est présent, on observe une **bande** à la taille attendue (comparaison avec témoins + et -).

Question 7

- **ADN garanti sans OGM (témoin -)** : pas de bande à 750 pb → résultat négatif (normal).
- **OGM certifié (témoin +)** : bande à ~750 pb → la PCR fonctionne et la taille attendue est bien repérée.
- **Aliment à tester** : bande à ~750 pb comme le témoin + → **présence du transgène** dans l'aliment testé (donc aliment contenant de l'ADN transgénique / OGM).

b) Détection d'une mutation (doc 6)

Question 8

Idée clé : après PCR, on dénature puis on laisse réapparier :

- Si l'individu est **homozygote** (normal ou muté) → les brins réappariés sont majoritairement **homoduplex** (appariement parfait).
- Si l'individu est **hétérozygote** → coexistence de brins "normaux" et "mutés" : on forme aussi des **hétéroduplex** (mésappariements/boucles), qui migrent **différemment** (souvent plus lentement, donc plus haut sur le gel). L'électrophorèse permet donc de distinguer les profils :
- **1 bande homoduplex** : homozygote (normal ou muté).
- **2 bandes (homoduplex + hétéroduplex)** : hétérozygote.

Question 9

Identification des génotypes :

- **Individu 3** : présence de **deux bandes** (dont une plus haute = hétéroduplex) → **hétérozygote**.
- **Individus 1 et 2** : **une seule bande** chacun → **homozygotes**.
 - Celui dont la bande migre **le plus bas** correspond au fragment **le plus court** (mutation par délétion) → **homozygote muté**.
 - L'autre → **homozygote normal**.

Dans le gel fourni, on conclut classiquement :

- **1 : homozygote normal ; 2 : homozygote muté ; 3 : hétérozygote.**

4) Bilan

La PCR est une technique qui permet d'amplifier rapidement et spécifiquement une séquence d'ADN grâce à une ADN polymérase thermostable et à des amorces ciblant la zone d'intérêt.

Elle produit un grand nombre de copies, rendant possible l'analyse d'échantillons très pauvres en ADN. La PCR est utilisée dans de nombreux domaines : détection de transgènes (OGM), diagnostic de mutations, médecine, police scientifique et recherche biologique.