

TD2 : DéTECTer, identifier, comprendre : la PCR au service des sciences du vivant

Aujourd'hui, quelques cellules suffisent pour révéler une identité, diagnostiquer une maladie génétique ou détecter la présence d'OGM dans un aliment. Cette prouesse repose sur une technique de biologie moléculaire devenue incontournable : la **PCR** (Polymerase Chain Reaction).

Issue de la découverte d'une bactérie vivant dans des conditions extrêmes, la PCR permet d'amplifier rapidement et spécifiquement une séquence d'ADN. Elle illustre parfaitement le lien entre **biodiversité, connaissances fondamentales et applications biotechnologiques majeures**.

Comment l'étude d'organismes vivant dans des milieux extrêmes a-t-elle permis de mettre au point une technique capable d'amplifier l'ADN et de répondre à des enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux majeurs ?

Objectifs

- Comprendre le principe de la PCR.
- Relier une découverte biologique à une application biotechnologique.
- Exploiter des résultats expérimentaux (électrophorèse).
- Comprendre des applications concrètes de la PCR (OGM, mutations).

1) Origine et intérêt de la PCR :

Document 1 :

Source chaude dans le parc national de Yellowstone aux États-Unis.

C'est là, dans des eaux à plus de 70 °C, qu'a été isolée la bactérie *Thermus aquaticus*. En 1976, des scientifiques ont isolé son ADN polymérase : la Taq polymérase. Alors que l'ADN polymérase de la plupart des êtres vivants est détruite au-dessus de 45 °C environ, la Taq polymérase supporte une température de 100 °C. La découverte de cette enzyme a permis, à la fin des années 1980, la mise au point d'une technique qui a révolutionné la biologie : la PCR (Polymerase Chain Reaction).



(Belin, Ed.2019, p.25)

Question 1.

À partir des documents 1 et 2, expliquer en quoi la découverte de la bactérie *Thermus aquaticus* a permis le développement de la technique de PCR.

Question 2.

Indiquer l'intérêt majeur de la PCR pour les biologistes lorsqu'ils disposent d'une très faible quantité d'ADN.

Document 2 :

La PCR, une technique révolutionnaire



Prélèvement d'ADN pour amplification avant analyse.

L'amplification en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction* ou PCR)* est une technique imaginée par Kary Mullis en 1985 (récompensé en 1993 par le prix Nobel de chimie) qui a bouleversé la biologie moléculaire et s'est imposée dans tous les laboratoires.

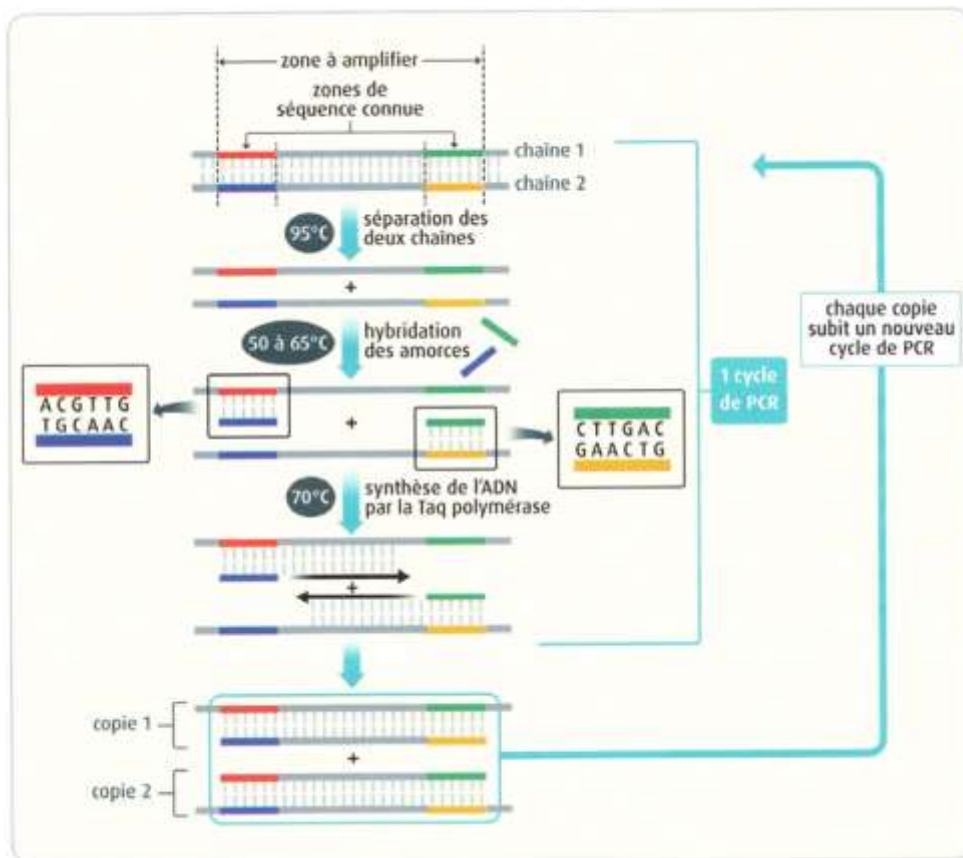
La PCR permet de multiplier rapidement et intensément une séquence d'ADN : on peut en effet obtenir par PCR un million de copies d'ADN en moins d'une heure ! Il devient alors possible d'analyser l'ADN à partir d'une quantité initiale infime. Par exemple, un cheveu, une trace de salive, une momie égyptienne ou encore un reste fossilisé d'humain ou de mammouth peuvent livrer les secrets de leur ADN.

La PCR est à la base de la réalisation des tests ADN* qui connaissent aujourd'hui une utilisation croissante

(Bordas, Ed.2019,p.46)

2) Principe de la PCR :

Document 3 :



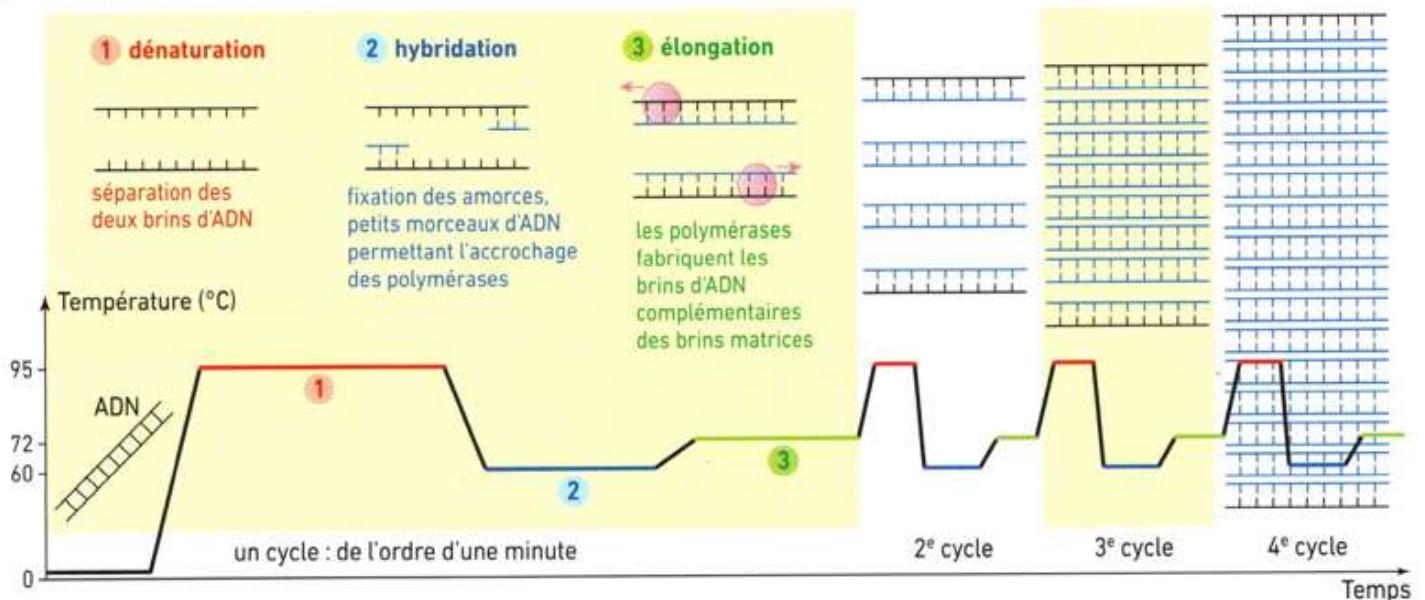
(Belin, Ed.2019, p.25)

Question 3. À l'aide des documents 3 et 4, décrire les trois étapes successives d'un cycle de PCR en précisant le rôle de la température à chaque étape.

Question 4. En vous appuyant sur le document 3, expliquer le rôle des amorces dans la PCR et préciser pourquoi elles permettent de cibler une séquence précise de l'ADN.

Question 5. Montrer que la PCR permet une amplification exponentielle de l'ADN. (répondre à une formule mathématique)

Document 4 :



■ Représentation schématique simplifiée des opérations se déroulant pendant la PCR (seul le premier cycle est détaillé).

(Bordas, Ed.2019,p.46)

3) Applications de la PCR :

a) Détection d'un transgène :

Document 5 :

Les OGM : des organismes très courants en agronomie.

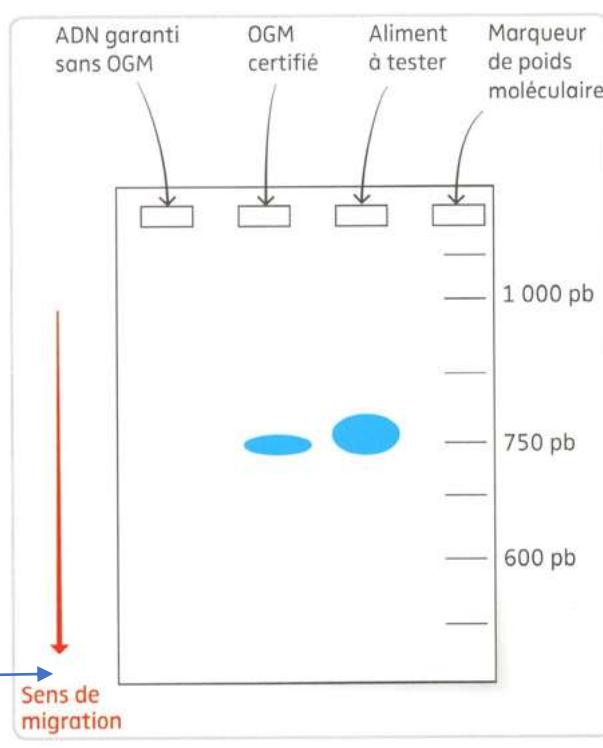
Un OGM est un organisme dont le patrimoine génétique a été modifié par transgenèse, c'est-à-dire par l'ajout d'un ou plusieurs gènes permettant à l'organisme d'acquérir de nouvelles caractéristiques (par exemple, le gène de résistance à un herbicide ou à un parasite). Ces gènes ajoutés sont appelés des transgènes et ont des séquences différentes de l'ADN de l'organisme receveur.

PRINCIPE

► On se propose de détecter la présence d'un transgène connu de 750 pb permettant une résistance à un antibiotique chez les plantes.

- 1 Extraire l'ADN de l'aliment dans lequel on recherche la présence du transgène.
- 2 Réaliser une PCR de cet ADN en utilisant des amores spécifiques du transgène.
- 3 Réaliser l'électrophorèse des fragments clonés par PCR et les comparer à des témoins positif et négatif.

(Nathan, Ed.2019,p.50)



Résultats de l'électrophorèse

Question 6. À partir du document 5, expliquer comment la PCR permet de détecter la présence d'un transgène dans un aliment.

Question 7. Interpréter le résultat présenté pour l'aliment testé.

b) Détection d'une mutation :

Document 6 : (Bordas, Ed.2019, p.60)

La détection d'une mutation par PCR

La mucoviscidose* est une maladie génétique grave due à une mutation d'un gène bien identifié : cette mutation correspond à une délétion de trois nucléotides successifs. Un test génétique a été mis au point permettant de détecter si l'ADN d'un individu est porteur ou non de cette mutation :

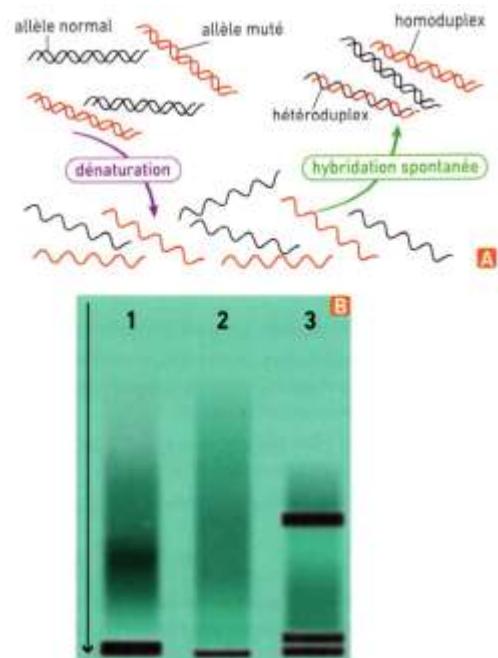
- on commence par amplifier par PCR le fragment d'ADN qui contient la séquence génétique concernée ;
- les fragments d'ADN amplifiés sont ensuite dénaturés, c'est-à-dire soumis à un traitement qui sépare les deux brins de chaque molécule. Il se reforme ensuite des molécules double brin par hybridation spontanée. Il peut alors se former des molécules d'ADN associant deux brins strictement complémentaires : c'est ce qu'on appelle des homoduplex. Mais il peut également se former des molécules d'ADN constituées d'un brin portant la mutation et d'un brin ne portant pas la mutation : ce sont des hétéroduplex (A).

Par électrophorèse, on peut facilement distinguer les homoduplex des hétéroduplex, car ces derniers migrent nettement moins vite (B).

Trois cas sont possibles :

- 1 : individu homozygote portant l'allèle normal ;
- 2 : individu homozygote portant l'allèle muté ;
- 3 : individu hétérozygote.

■ Interprétez les résultats obtenus.



Question 8. En utilisant le document 6, expliquer comment la PCR suivie d'une électrophorèse permet de distinguer un individu homozygote normal, homozygote muté et hétérozygote.

Question 9. Identifier le génotype des individus 1, 2 et 3 présentés dans le document 6

4) Bilan :

Rédiger un court paragraphe de synthèse montrant que la PCR est un outil essentiel en biologie et en médecine.