

## Éléments de correction TD1 : Lire l'ADN : des premières séquences au génome humain et aux fossiles

### **PARTIE 1 : Séquencer un fragment d'ADN : la méthode de Sanger**

#### **1. Identifier la molécule qui sert de modèle lors du séquençage de Sanger.**

La molécule qui sert de modèle est le **brin d'ADN matrice** à séquencer. Ce brin est copié par l'ADN polymérase lors de la synthèse d'un nouveau brin complémentaire.

#### **2. Expliquer le rôle des ddNTP dans cette méthode.**

Les **ddNTP (didésoxynucléotides)** sont des nucléotides modifiés qui ne possèdent pas de groupement OH en position 3'.

Lorsqu'un ddNTP est incorporé dans le brin en cours de synthèse, **l'élongation de l'ADN s'arrête immédiatement**, car aucun nouveau nucléotide ne peut être ajouté.

#### **3. Montrer comment l'obtention de fragments de tailles différentes permet de reconstituer la séquence d'ADN.**

L'incorporation aléatoire des ddNTP au cours de la synthèse produit une **collection de fragments d'ADN de longueurs différentes**, chacun se terminant par une base connue (A, T, C ou G selon le tube).

Après séparation des fragments par électrophorèse, **les fragments sont classés du plus court au plus long**. En lisant les bandes du gel **de bas en haut**, et en identifiant à chaque position la base correspondante, on reconstitue **l'ordre des nucléotides** du fragment d'ADN étudié.

#### **4. Expliquer pourquoi cette méthode est adaptée au séquençage d'un gène, mais pas d'un génome entier.**

La méthode de Sanger est **précise mais lente**, car elle ne permet de séquencer qu'un **fragment à la fois** et nécessite plusieurs réactions distinctes.

Elle est donc bien adaptée au séquençage de **petits fragments d'ADN**, comme un gène.

En revanche, le génome humain contient **environ 3,2 milliards de paires de bases**, ce qui rend cette méthode **trop longue, coûteuse et peu efficace** pour un séquençage à grande échelle.

### **PARTIE 2 : Lire un génome entier : le séquençage haut débit (NGS)**

#### **5. Expliquer pourquoi il est nécessaire de fragmenter l'ADN avant le séquençage.**

Les technologies de séquençage haut débit ne peuvent lire que **des fragments d'ADN relativement courts**. Il est donc nécessaire de **fragmenter le génome** afin de pouvoir séquencer simultanément un très grand nombre de fragments.

#### **6. Comparer le nombre de fragments analysés simultanément dans la méthode de Sanger et dans le NGS.**

- **Méthode de Sanger** : un seul fragment est analysé à la fois.
- **Séquençage haut débit (NGS)** : **des millions à des milliards de fragments** peuvent être séquencés simultanément.

Le NGS représente donc un changement d'échelle majeur par rapport à la méthode de Sanger.

#### **7. Montrer que l'informatique est indispensable au fonctionnement du séquençage haut débit.**

Le séquençage haut débit produit une **quantité massive de données** correspondant à des millions de fragments courts. L'outil informatique est indispensable pour :

- **assembler les fragments** entre eux,
- les comparer à un **génom de référence**,
- identifier les chevauchements,
- reconstituer la séquence complète du génome.

Sans l'informatique, l'exploitation des données serait impossible.

#### **8. Expliquer en quoi cette méthode a rendu possible le séquençage complet du génome humain.**

Grâce au séquençage parallèle de millions de fragments, le NGS permet d'obtenir rapidement une **couverture complète du génome humain**, à un coût et dans un délai compatibles avec la recherche et la médecine.

Cette méthode a rendu possible le **séquençage de génomes entiers**, ainsi que la comparaison de milliers d'individus.

### **PARTIE 3 : Méthodes de troisième génération**

#### **9. Identifier la différence entre le type de signal mesuré par PacBio et par Nanopore.**

- **PacBio (SMRT)** : détecte un **signal lumineux (fluorescence)** émis lors de l'incorporation de chaque nucléotide.
- **Nanopore** : détecte des **variations de courant électrique** provoquées par le passage successif des nucléotides dans le nanopore.

**10. Expliquer pourquoi la lecture de longues molécules constitue un avantage scientifique.**

La lecture de longues molécules permet :

- de **mieux assembler les génomes**,
- de franchir des **régions répétées ou complexes**,
- de limiter les erreurs d'assemblage.

Elle apporte donc une information plus fidèle sur l'organisation réelle du génome.

**11. Justifier l'utilisation de ces méthodes pour l'étude de l'ADN fossile.**

L'ADN fossile est **rare, dégradé et fragmenté**.

Les méthodes de troisième génération permettent :

- de lire de **très petites quantités d'ADN**,
- parfois **sans amplification préalable**,
- et d'obtenir des séquences exploitables malgré la dégradation.

Elles sont donc particulièrement adaptées à l'étude des ADN anciens.

**12. Compléter le tableau en justifiant chaque choix.**

Question scientifique	Méthode la plus adaptée	Justification
Séquencer un gène unique	Sanger	Méthode précise, adaptée aux fragments courts
Comparer des milliers de génomes humains	NGS	Séquençage massif et rapide
Étudier un ADN fossile fragmenté	Troisième génération	Lecture de molécules individuelles, forte sensibilité
Identifier rapidement une mutation	NGS	Comparaison rapide à un génome de référence

**13. Montrer que le développement de nouvelles méthodes répond à de nouveaux besoins scientifiques.**

Chaque nouvelle méthode de séquençage a été développée pour **répondre à des questions scientifiques nouvelles** :

- la méthode de Sanger pour lire des gènes,
- le NGS pour comparer des génomes entiers,
- les méthodes de troisième génération pour analyser des génomes complexes ou anciens.

**PARTIE 4 : Synthèse**

Les méthodes de séquençage de l'ADN ont évolué parallèlement aux **questions scientifiques posées**.

La méthode de Sanger a permis les premières lectures précises de fragments d'ADN.

Le séquençage haut débit a rendu possible l'étude complète du génome humain et la comparaison de milliers d'individus.

Enfin, les méthodes de troisième génération ont ouvert l'accès à l'analyse de longues molécules et de l'ADN fossile. Ainsi, les progrès technologiques ont profondément transformé notre compréhension du **génomme humain, de sa diversité et de son histoire évolutive**.