

PCR : Analyse bioinformatique

La bioinformatique est un champ de recherche multidisciplinaire où travaillent de concert biologistes et informaticiens dans le but de résoudre un problème scientifique posé par la biologie.

Les applications sont diverses : analyse du génome, modélisation moléculaire, l'analyse d'image, etc.

L'analyse de séquence

Au départ, les analyses de génome ont généré des quantités importantes de données qu'il a fallu classer, annoter et rendre disponible aux chercheurs. Cela a été rendu possible grâce à différentes bases de données, accessibles en lignes, comme par exemple GenBank.

Il a ensuite fallu développer des outils d'analyse de séquences comme par exemple dans une banque de données à partir d'une autre séquence ou d'un fragment de séquence. La technique la plus commune est le BLAST.

Les couples d'amorces utilisés lors de l'AT sur l'analyse PCR vont ont été donnés.



Attention : les séquences d'amorces sont toujours données orientées dans le sens 5' → 3'

Lorsque les amorces sont inconnues, un nombre important de logiciels de « design » d'amorces PCR permettent d'en déterminer la séquence et de vérifier leur compatibilité (longueur, absence de régions complémentaires et températures d'hybridation).

Analyse :

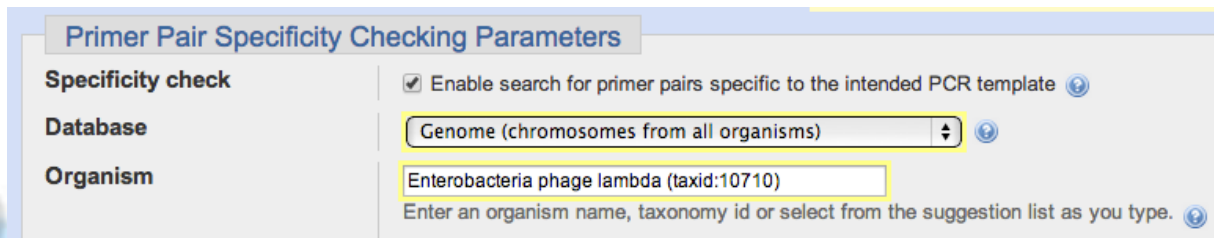
1) Aller a cette adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>

2) Entrer les séquences des amorces 1 et 2 dans les cadres « forward primer » et « reverse primer » et 3 (amorces toujours orientées 5' → 3')

Primer Parameters	
Use my own forward primer (5'→3' on plus strand)	<input type="text"/>  Clear
Use my own reverse primer (5'→3' on minus strand)	<input type="text"/>  Clear

3) Dans les paramètres de spécificité, sélectionner la base de donnée génome (genome, chromosomes from all organisms).

4) Sélectionner l'organisme ciblé lors de l'AT.



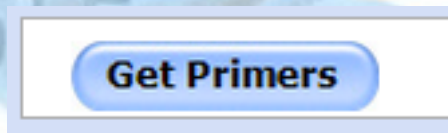
Primer Pair Specificity Checking Parameters

Specificity check ☒ Enable search for primer pairs specific to the intended PCR template ?

Database Genome (chromosomes from all organisms) ?

Organism Enterobacteria phage lambda (taxid:10710) ?
Enter an organism name, taxonomy id or select from the suggestion list as you type. ?

5) Valider en cliquant sur le bouton « Get primers » en bas à gauche de la page (bouton bleu).



6) Noter (la page peut mettre plus d'une minute pour s'afficher):

- Le numéro du 1^{er} nucléotide où s'hybride l'amorce 5' (left primer)
- Le numéro du dernier nucléotide où s'hybride l'amorce 3' (right primer)

Calculer la taille théorique de l'amplicon

Ceci vous permettra de vérifier si la bande obtenue sur votre gel correspond bien à celle attendue (spécificité du test PCR).

7) Refaire le même test en sélectionnant comme organisme :

- Escherichia coli
- L'homme (« human »)

Ceci vous permettra de vérifier si les amorces utilisées dans ce test de détection PCR risquent d'amplifier de l'ADN présent lors de prélèvements en conditions réelles.

II. Analyse

A partir des résultats que vous avez obtenu grâce à l'analyse bioinformatique et de l'analyse du gel conclure quant à la spécificité de votre test.