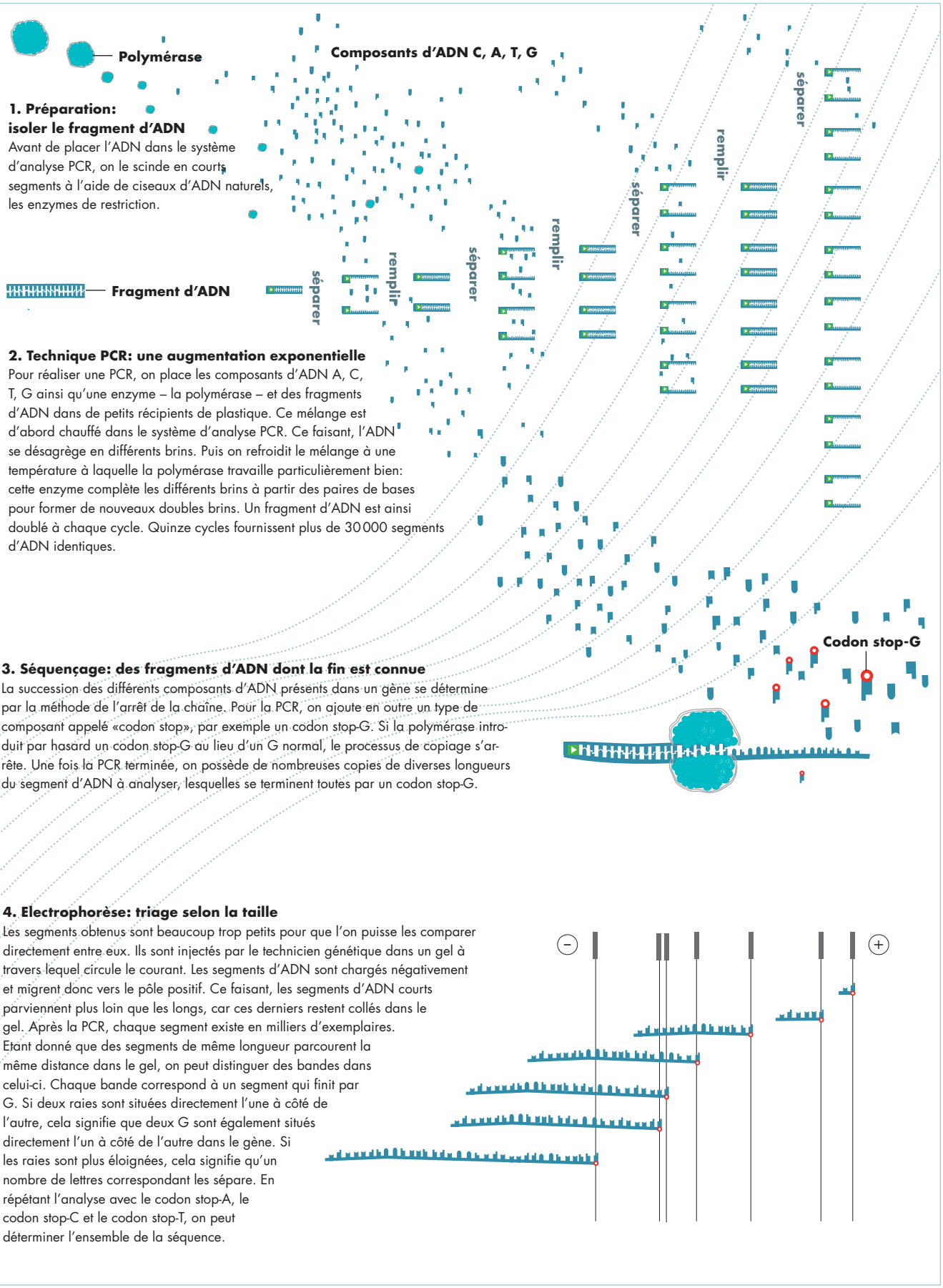
Génomique – le monde de l'ADN



1. Préparation: isoler le fragment d'ADN
Avant de placer l'ADN dans le système d'analyse PCR, on le scinde en courts segments à l'aide de ciseaux d'ADN naturels, les enzymes de restriction.

2. Technique PCR: une augmentation exponentielle
Pour réaliser une PCR, on place les composants d'ADN A, C, T, G ainsi qu'une enzyme – la polymérase – et des fragments d'ADN dans de petits récipients de plastique. Ce mélange est d'abord chauffé dans le système d'analyse PCR. Ce faisant, l'ADN se désagrège en différents brins. Puis on refroidit le mélange à une température à laquelle la polymérase travaille particulièrement bien: cette enzyme complète les différents brins à partir des paires de bases pour former de nouveaux doubles brins. Un fragment d'ADN est ainsi doublé à chaque cycle. Quinze cycles fournissent plus de 30 000 segments d'ADN identiques.

3. Séquençage: des fragments d'ADN dont la fin est connue
La succession des différents composants d'ADN présents dans un gène se détermine par la méthode de l'arrêt de la chaîne. Pour la PCR, on ajoute en outre un type de composant appelé «codon stop», par exemple un codon stop-G. Si la polymérase introduit par hasard un codon stop-G au lieu d'un G normal, le processus de copiage s'arrête. Une fois la PCR terminée, on possède de nombreuses copies de diverses longueurs du segment d'ADN à analyser, lesquelles se terminent toutes par un codon stop-G.

4. Electrophorèse: triage selon la taille
Les segments obtenus sont beaucoup trop petits pour que l'on puisse les comparer directement entre eux. Ils sont injectés par le technicien génétique dans un gel à travers lequel circule le courant. Les segments d'ADN sont chargés négativement et migrent donc vers le pôle positif. Ce faisant, les segments d'ADN courts parviennent plus loin que les longs, car ces derniers restent collés dans le gel. Après la PCR, chaque segment existe en milliers d'exemplaires. Etant donné que des segments de même longueur parcourent la même distance dans le gel, on peut distinguer des bandes dans celui-ci. Chaque bande correspond à un segment qui finit par G. Si deux raies sont situées directement l'une à côté de l'autre, cela signifie que deux G sont également situés directement l'un à côté de l'autre dans le gène. Si les raies sont plus éloignées, cela signifie qu'un nombre de lettres correspondant les sépare. En répétant l'analyse avec le codon stop-A, le codon stop-C et le codon stop-T, on peut déterminer l'ensemble de la séquence.