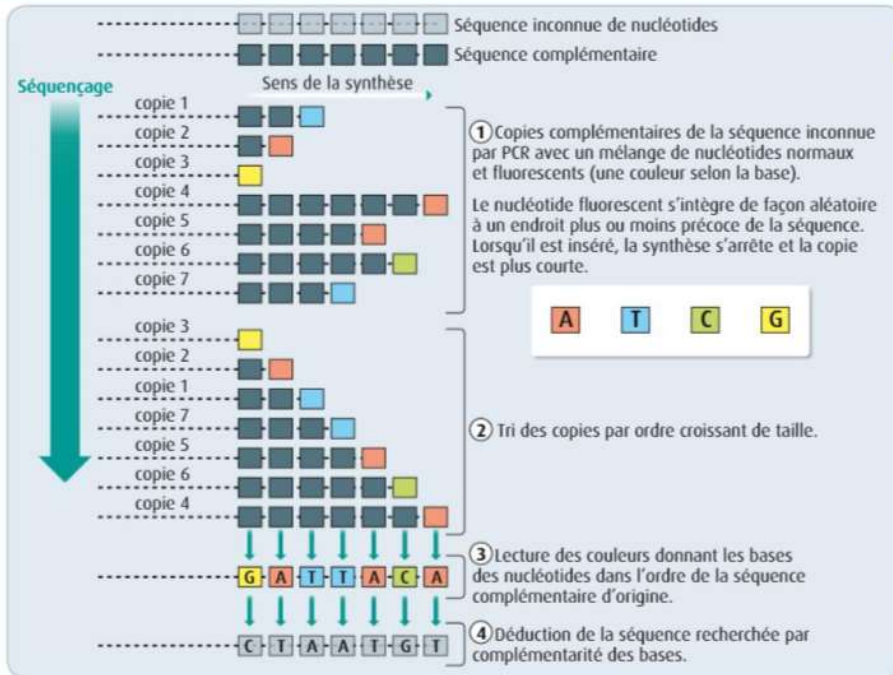


1) Le séquençage du génome humain

a- Le principe de séquençage d'un génome

Le principe du séquençage est de réaliser une PCR avec des nucléotides particuliers (didesoxynucléotides ddNTP fluorescents). Ceux-ci ne peuvent se fixer sur l'ADN mais ils bloquent la polymérisation. Ainsi, on produit des copies tronquées d'ADN qui sont terminées par des nucléotides fluorescents. On fait migrer ces molécules d'ADN sur un gel et on utilise une machine (séquenceur) pour scanner ce gel et identifier la fluorescence. Ceci permet de reconstituer la séquence d'ADN.



2 La méthode de séquençage de Sanger. En 1977, Frederick Sanger invente une méthode de séquençage de l'ADN par synthèse enzymatique. L'ADN polymérase va progressivement synthétiser un nouveau brin en utilisant des nucléotides normaux ou fluorescents. D'abord utilisée pour des petits fragments d'ADN, cette méthode sera progressivement améliorée pour gagner en rapidité et analyser des génomes entiers. Les premiers génomes entiers ont été séquencés avec la méthode de Sanger.

Exemple de séquence. La méthode **3** a pu être automatisée dans des machines appelées séquenceurs analysant 1000 séquences à la fois. Les séquences obtenues peuvent se présenter comme une succession de pics de fluorescence. L'ordre de ces pics donne la séquence.

