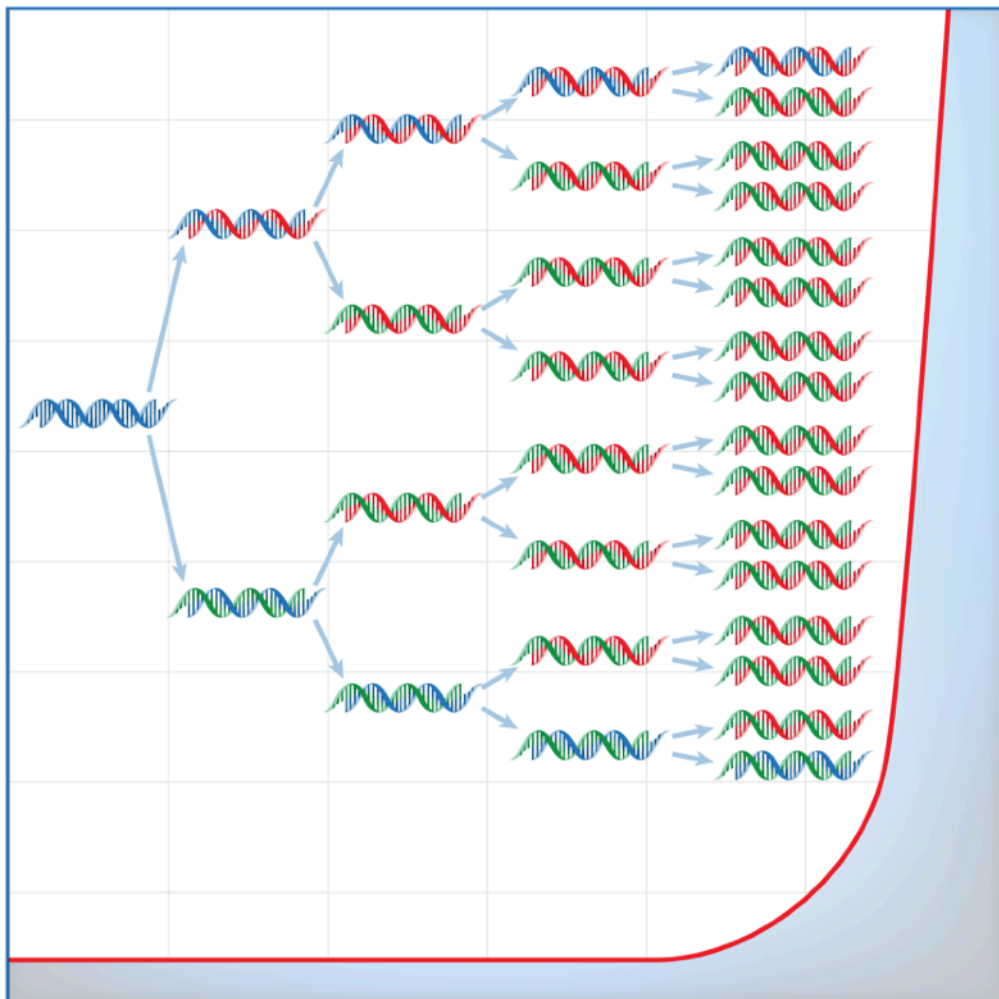




## Analyse du nombre de cycles PCR Guide de l'élève

Cat# M6005TAE

Version 081621-FR



## Table des matières

Sécurité au laboratoire	2
Introduction	3
Questions préalables	7
Protocole expérimental – Jour1	8-9
Protocole expérimental - Jour 2	10-11
Feuille de travail sur l'analyse du gel	12
Questions d'analyse	13-14
Annexe A - Glossaire	15
Annexe B - Électrophorèse sur gel	16
Annexe D - Captures d'écran pour pause pour l'application PCR	17-18
Annexe D - Ressources recommandées	19

Résumé : Comment la réaction en chaîne par polymérase (PCR) crée-t-elle des milliards de copies d'un morceau d'ADN en seulement quelques cycles ? Le mécanisme de la PCR copie chaque fragment d'ADN à chaque cycle, ce qui entraîne un doublement exponentiel du nombre de fragments. Dans ce mini-laboratoire pratique, les élèves vont acquérir une appréciation intuitive de la puissance de l'amplification exponentielle en mettant en place des réactions PCR et en analysant les produits après un nombre variable de cycles. Les élèves estimeront le nombre minimum de cycles nécessaires pour détecter un produit PCR sur un gel d'agarose.

## Sécurité au laboratoire

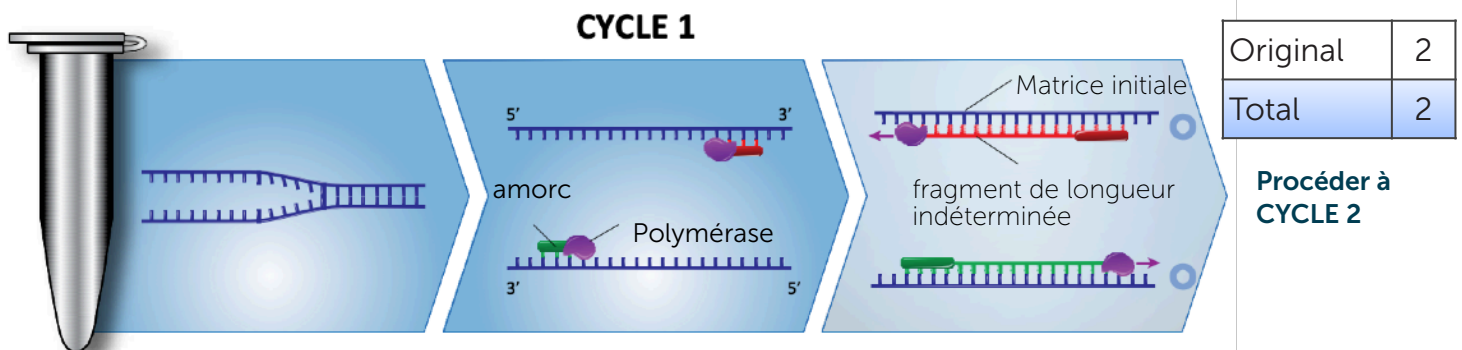
1. Porter des blouses, des gants et des lunettes de protection comme l'exige le protocole du district.
2. Soyez prudent lors de l'utilisation de tout équipement électrique tel que les machines PCR et les unités d'électrophorèse.
3. Les machines PCR ont des surfaces qui peuvent être extrêmement chaudes. Soyez prudent lorsque vous ouvrez et fermez le couvercle et lorsque vous placez et retirez les tubes.
4. Le fait de chauffer et de verser de l'agarose fondu présente un risque d'éclaboussures. Soyez prudent lorsque vous manipulez des liquides chauds. Portez des lunettes de protection et des gants pour éviter les brûlures.
5. Lavez-vous soigneusement les mains après avoir manipulé des matériaux biologiques et des produits chimiques.

## Introduction

Comment les scientifiques déterminent-ils l'identité d'un suspect à partir d'une seule goutte de sang sur une scène de crime ? Comment les cliniciens peuvent-ils trouver une seule mutation d'une paire de bases parmi les trois milliards de paires de bases du génome humain ? La réaction en chaîne par polymérase (PCR), l'une des techniques les plus essentielles et omniprésentes de la biologie moléculaire moderne, permet aux scientifiques de cibler et de copier des régions spécifiques du génome. La PCR a révolutionné des domaines tels que la médecine légale, le diagnostic médical, la génétique et la biotechnologie. Les techniques basées sur la PCR sont au cœur de nombreuses technologies de séquençage avancées.

Dans vos leçons précédentes, vous avez appris le mécanisme de la PCR qui permet de copier l'ADN dans un tube à essai à l'aide de quelques réactifs simples et d'amorces spécialement conçues pour cibler un gène d'intérêt. Pour une revue de l'histoire, du mécanisme biochimique et des applications de la PCR, voir l'annexe A. Dans ce laboratoire, nous examinerons en détail la nature exponentielle de l'amplification PCR en analysant les produits d'une réaction PCR en fonction du nombre de cycles. L'amplification exponentielle est la clé pour comprendre pourquoi la PCR est si efficace pour produire des milliards de copies d'une cible en un court laps de temps.

Commençons par le premier cycle. Les détails de l'appariement des bases complémentaires et de la directionnalité des brins sont laissés de côté ici pour des raisons de simplicité. En suivant le cycle de dénaturation, d'hybridation et d'extension, vous pouvez voir que, en partant d'un morceau d'ADN double brin, vous obtiendrez deux copies à la fin du premier cycle. Nous les appellerons "copies de l'original" car les brins originaux font toujours partie de leur structure. Notez que nous ne savons pas quelle sera la longueur du brin nouvellement copié. La polymérase allongera le brin jusqu'à ce que la température soit augmentée pour la dénaturation du cycle suivant. Il n'y a rien pour lui dire où s'arrêter.

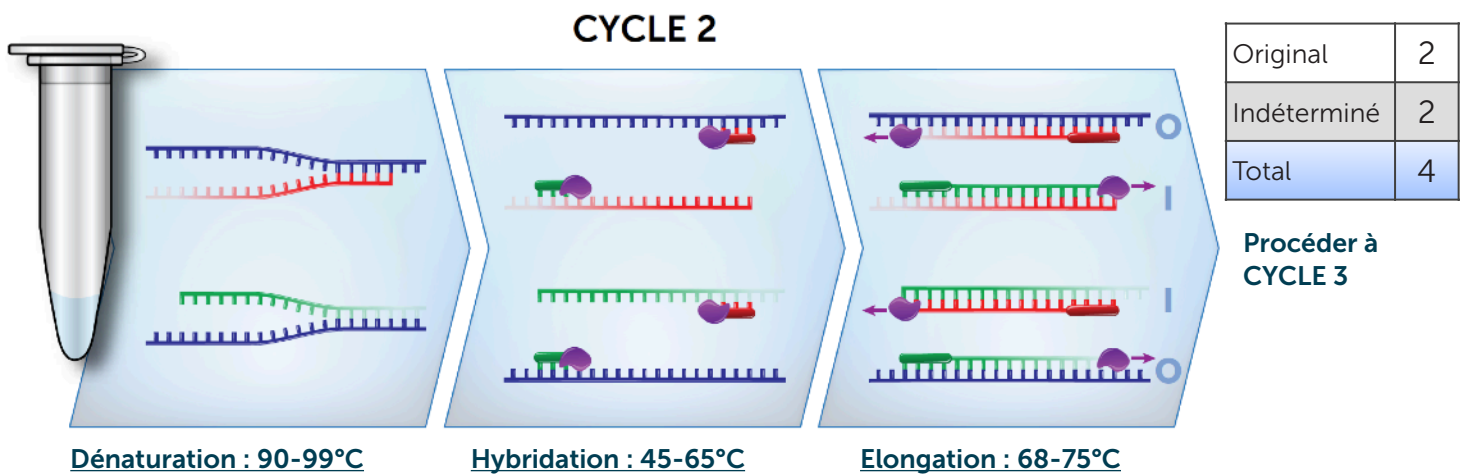


**Dénaturation : 90-99°C**  
La température est élevée pour séparer l'ADN double brin en deux molécules d'ADN simple brin.

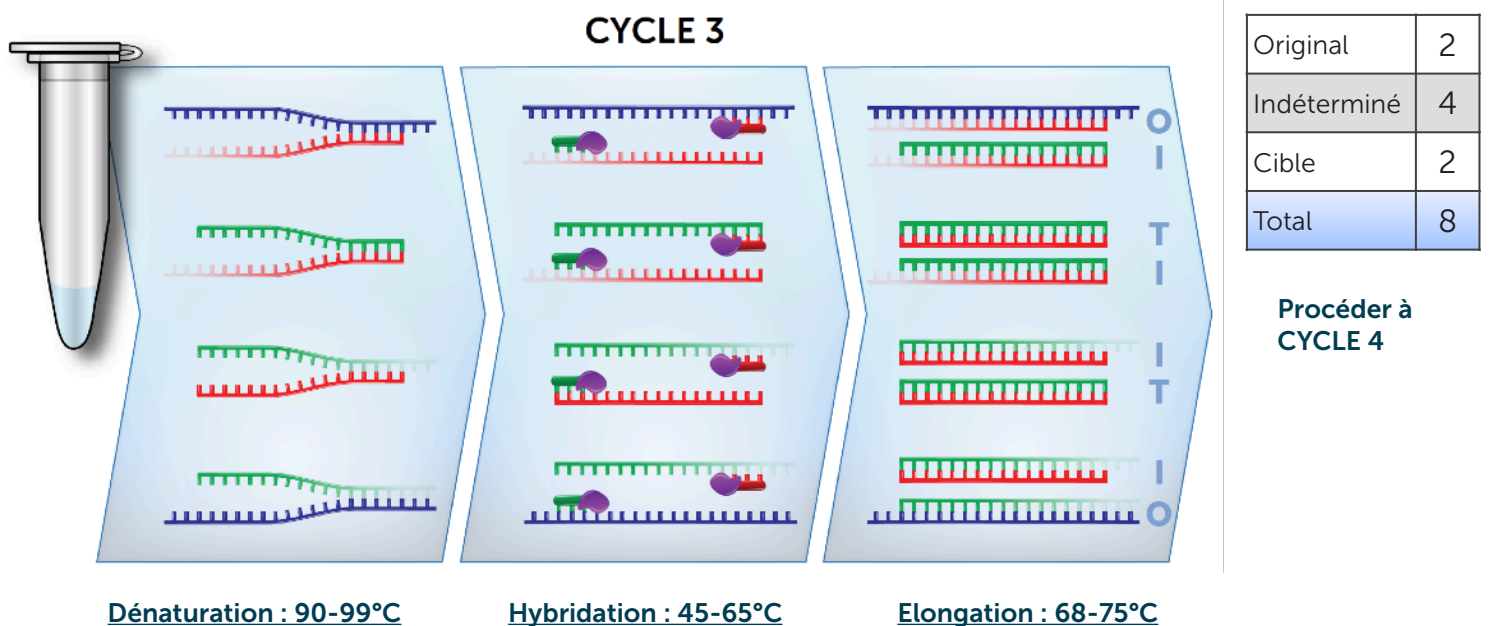
**Hybridation : 45-65°C**  
La température est abaissée pour permettre aux amorces de se lier à l'ADN matrice. Les amorces et la polymérase se fixent à l'ADN simple brin.

**Elongation : 68-75°C**  
La température est augmentée pour permettre à la polymérase d'ajouter des dNTP pour synthétiser le brin complémentaire à l'original.

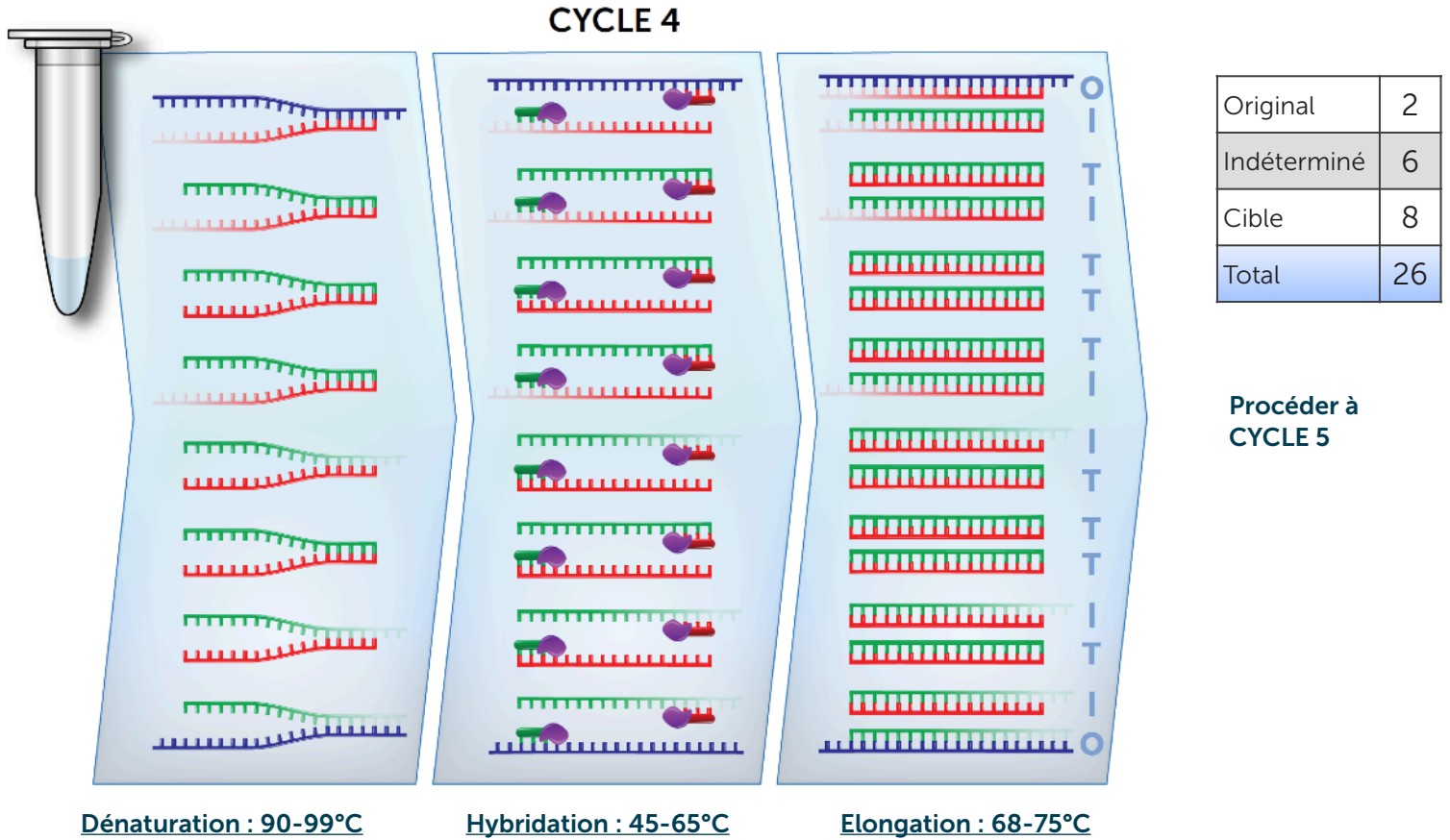
Le deuxième cycle commence lorsque la température est à nouveau augmentée à 94°C. Pendant la dénaturation, les deux fragments double brin sont séparés en quatre fragments simple brin. Chacun de ces fragments est un modèle à copier pendant l'étape d'extension. Comme deux de ces brins simples sont la matrice d'origine, ils seront copiés de la même manière que dans le premier cycle. Les copies produites au cours du premier cycle serviront également de modèles, mais comme nous ne connaissons pas leur longueur initiale, nous les appellerons "fragments de longueur indéterminée".



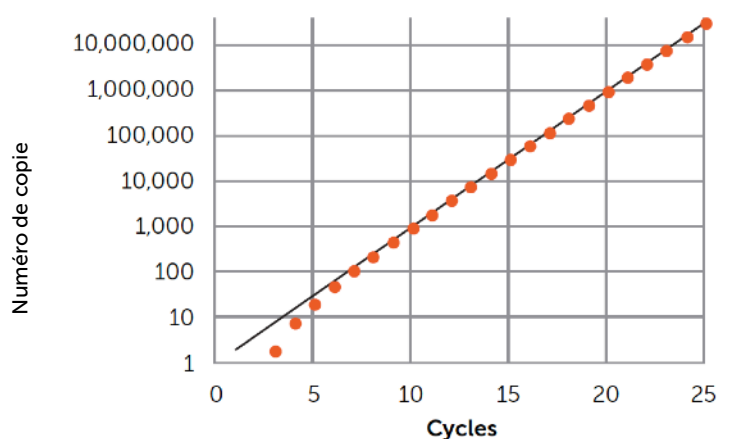
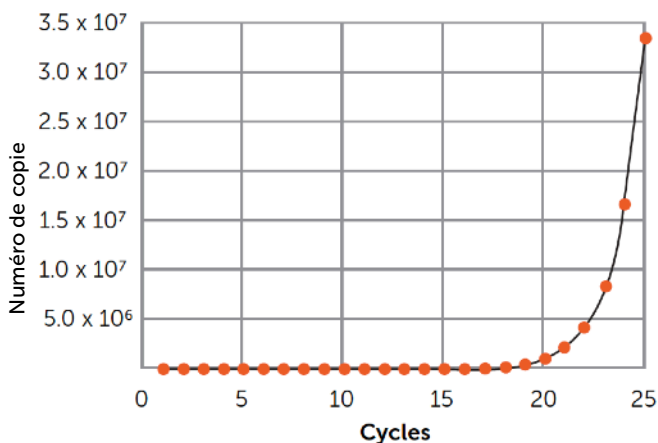
Au cours du troisième cycle, quelque chose de nouveau se produit. De nouveau, les séquences originales sont copiées, les fragments de longueur indéterminée sont copiés, mais maintenant les séquences qui ont été copiées à partir des fragments de longueur indéterminée sont elles-mêmes copiées, produisant deux fragments qui sont mis entre parenthèses aux deux extrémités par les amorces. Nous savons exactement quelle est la longueur de ces fragments - c'est la séquence cible pour laquelle nous avons conçu les amorces. Après le troisième cycle, nous avons huit fragments au total, mais seuls deux d'entre eux sont le fragment cible.



Regardez ce qui se passe après le cycle quatre. Nous avons maintenant deux copies de l'original, six fragments de longueur indéterminée et huit fragments de cible ! Même si la cible n'est pas apparue avant le troisième cycle, elle augmente plus vite que les deux autres.



Le protocole PCR va se poursuivre pendant encore 20 à 30 cycles, mais nous n'allons pas dessiner tous les produits car cela remplirait rapidement plusieurs pages. A la place, nous pouvons essayer de repérer un modèle dans la relation entre le nombre de cycles et le nombre de copies et utiliser cette relation pour déterminer le nombre de copies après n'importe quel nombre de cycles. Nous avons reporté le nombre total de copies et le nombre de copies de la longueur cible sur le graphique ci-dessous :



**Tableau 1. Amplification de l'ADN sur 25 cycles PCR**

Cycles	Total des copies	Copies cibles
1	2	0
2	4	0
3	8	2
4	16	8
5	32	22
6	64	52
7	128	114
8	256	240
9	512	494
10	1,024	1,004
11	2,048	2,026
12	4,096	4,072
13	8,192	8,166
14	16,384	16,356
15	32,768	32,738
16	65,536	65,504
17	131,072	131,038
18	262,144	262,108
19	524,288	524,250
20	1,048,576	1,048,536
21	2,097,152	2,097,110
22	4,194,304	4,194,260
23	8,388,608	8,388,562
24	16,777,216	16,777,168
25	33,554,432	33,554,382

Dans le panneau de gauche, le nombre de copies sur 25 cycles est tracé sur une échelle linéaire, et dans le panneau de droite, le nombre de copies est tracé sur une échelle semi-logarithmique. La ligne noire pleine représente le nombre total de copies et les points orange représentent le nombre de copies de longueur cible. Les nombres utilisés pour générer ces graphiques sont indiqués dans le **tableau 1**.

Notez que dans le scénario que nous venons de décrire, nous commençons avec une seule copie de l'ADN matrice. Dans la plupart des expériences, vous commencerez avec des centaines ou des milliers de copies.

**CONSIDÉREZ CECI :** Comment le nombre de fragments après un cycle spécifique changera-t-il si vous commencez avec 4 fois plus d'ADN matrice ? Et avec 10 fois plus d'ADN ?

La compréhension du mécanisme d'amplification de la PCR et du nombre de copies produites par un cycle est intéressante en soi, mais elle a également des implications pratiques pour la conception des protocoles de PCR. Pour de nombreux tests moléculaires, le résultat est une bande visualisée sur un gel d'agarose. La luminosité d'une bande est proportionnelle à la quantité d'ADN qu'elle contient. Il existe une luminosité minimale nécessaire pour détecter la bande à l'œil nu ou avec un appareil photo, et donc un nombre minimal de fragments d'ADN nécessaires pour visualiser une bande. C'est ce qu'on appelle la **limite de détection**. La limite de détection est une propriété du colorant et de l'illuminateur que nous avons utilisés pour visualiser l'ADN. Notez que vous ne pouvez pas voir l'ADN directement. Nous utilisons la fluorescence de GelGreen™, un colorant qui se lie à l'ADN, comme indicateur de la quantité d'ADN. Dans une réaction PCR, le nombre minimum de fragments correspond à un nombre minimum de cycles, un paramètre essentiel à connaître lorsque vous concevez un test PCR.

Dans ce laboratoire, vous allez estimer le nombre minimum de cycles nécessaires pour voir une bande pour une réaction PCR particulière. La réaction PCR amplifie une section du génome du bactériophage lambda, un système modèle classique pour la biologie moléculaire. **Vous exécuterez la réaction pendant 10, 15, 20, 25 et 30 cycles, puis vous visualiserez les résultats sur un gel d'agarose.**



## Questions préalables

1. Une certaine espèce de bactérie se divise toutes les minutes. En commençant par une cellule, après une minute, elle se sera divisée en deux, et après deux minutes, chacune de ces cellules se sera à nouveau divisée, pour un total de quatre. Si j'ai une boîte de Pétri à moitié recouverte de bactéries, combien de temps dois-je attendre pour que la boîte soit complètement recouverte de bactéries ?
2. Les phénomènes exponentiels sont extrêmement courants dans les sujets que vous étudierez à l'école et que vous rencontrerez dans votre vie quotidienne. Utilisez le tableau ci-dessous pour noter un exemple de croissance exponentielle pour chacun des sous-thèmes ci-dessous. Partagez votre liste avec votre partenaire de laboratoire ou votre groupe de travail.

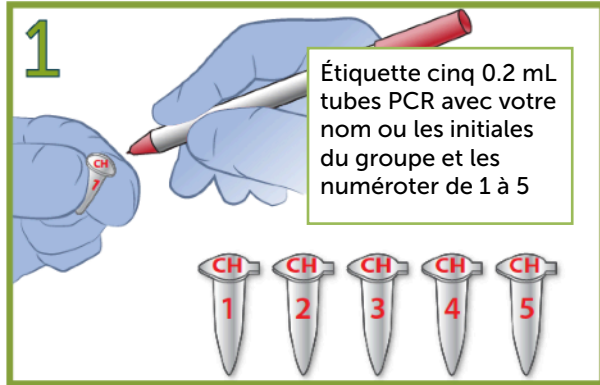
Sujet	Exemple de croissance exponentielle
Écologie/Sciences de l'environnement	
Affaires/Économie	
Médecine	
Physique	

3. Vous avez effectué deux réactions PCR identiques, toutes deux avec la même matrice, les mêmes amorces et la même polymérase, et chaque réaction a produit une seule bande d'ADN. Une réaction a été exécutée pendant vingt cycles PCR et l'autre pendant trente cycles PCR. Quelle bande d'ADN se déplacera le plus loin sur un gel d'agarose ?
4. Vous avez mis en place deux réactions PCR identiques pour effectuer 20 et 30 cycles. Cependant, vous avez oublié de noter quel tube a été retiré après 20 cycles et lequel après 30. En utilisant l'électrophorèse sur gel, comment pouvez-vous faire la différence ?

## Protocole expérimental

### Jour 1 : Préparez et effectuez votre amplification

**1**



Étiquette cinq 0.2 mL tubes PCR avec votre nom ou les initiales du groupe et les numéroter de 1 à 5

**3** Bouchez hermétiquement les tubes. Centrifugez les 5 tubes pour mélanger les réactifs



8000 RPM  
15 secondes

Centrifugez tous les 5 tubes ensemble

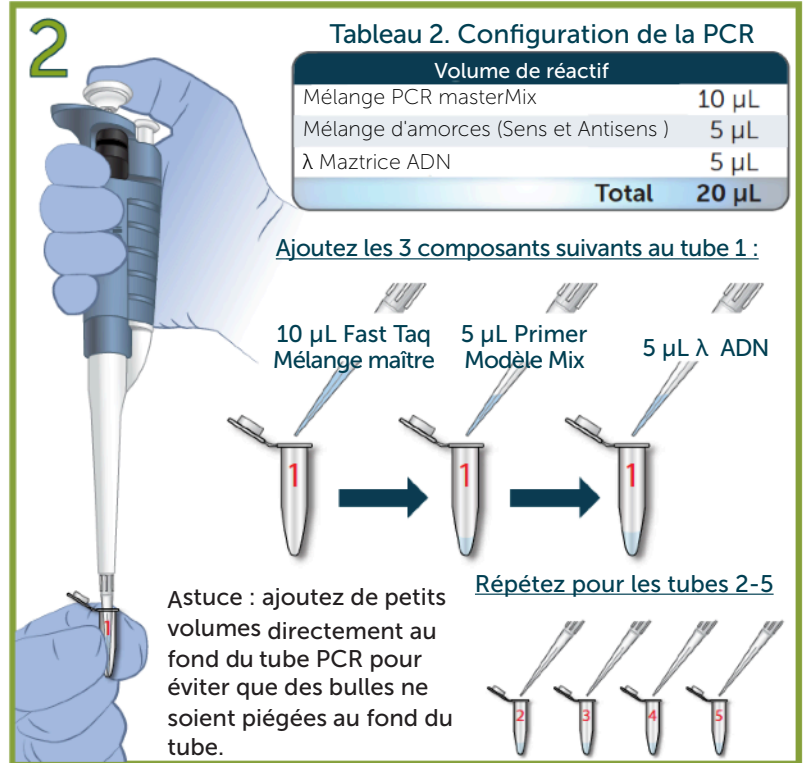
Assurez-vous que la centrifugeuse est équilibrée

**2**

**Tableau 2. Configuration de la PCR**

Volume de réactif	
Mélange PCR masterMix	10 $\mu$ L
Mélange d'amorces (Sens et Antisens)	5 $\mu$ L
$\lambda$ Maztrice ADN	5 $\mu$ L
<b>Total</b>	<b>20 <math>\mu</math>L</b>

Ajoutez les 3 composants suivants au tube 1 :



10  $\mu$ L Fast Taq Mélange maître

5  $\mu$ L Primer Modèle Mix

5  $\mu$ L  $\lambda$  ADN

Astuce : ajoutez de petits volumes directement au fond du tube PCR pour éviter que des bulles ne soient piégées au fond du tube.

Répétez pour les tubes 2-5



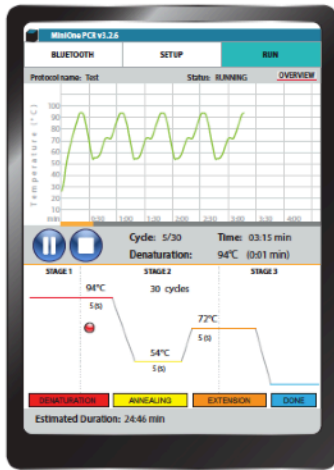
## Protocole expérimental

### Jour 1 : Préparez et effectuez votre amplification (suite)

Réglez un minuteur pour vous rappeler de retirer vos tubes aux cycles 10, 15, 20, 25 et 30.

5

Utiliser l'Application mobile pour surveiller la progression de la réaction PCR Appuyez sur la touche "Pause".



Attendez jusqu'à ce que "Statut :Paused" apparaît au-dessus du graphique avant d'ouvrir le couvercle et en retirant votre (voir Nombre Annexe D)

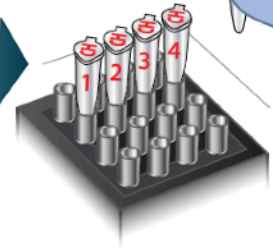
Tableau 4. Enregistrement du numéro de cycle

	Nombre de cycles
	10
	15
	20
	25
	30

4



Placez les tubes PCR dans le système PCR MiniOne.



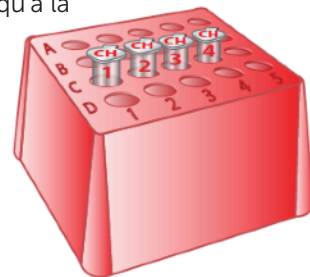
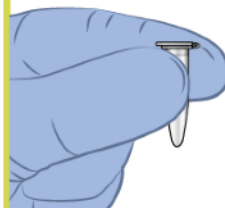
Lorsque tous les échantillons sont chargés, fermez le couvercle et exécutez le protocole PCR ci-dessous.

Tableau 3. Protocole pour l'amplification des fragments

	Durée	Température	Cycles
Dénaturation	5 sec	94°C	30
Hybridation	5 sec	54°C	
Extension	5 sec	72°C	
Incubation finale	∞	4°C	

6

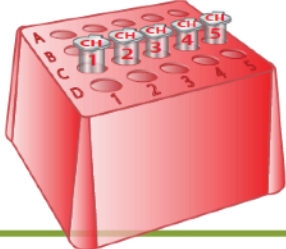
Remettez vos échantillons à votre professeur jusqu'à la prochaine leçon.



## Protocole expérimental

### Jour 2 : Visualisez vos résultats avec l'électrophorèse sur gel

**1** Récupérez vos Tubes PCR

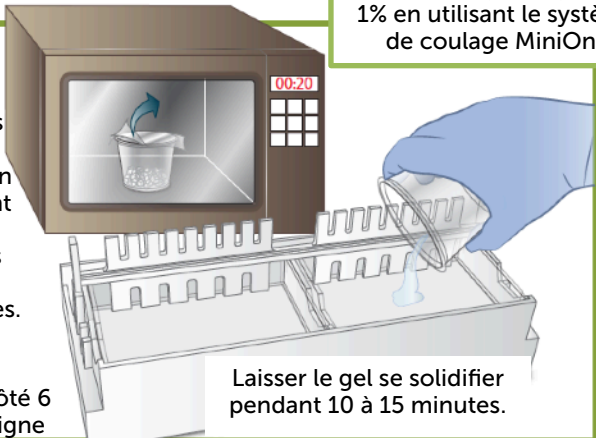


**2** Dégazez les coupelles d'agarose en les décollant légèrement avant de les mettre au micro-ondes.

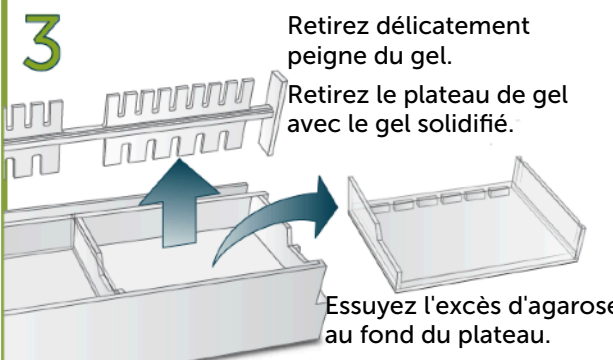
Utilisez le côté 6 puits du peigne

Laisser le gel se solidifier pendant 10 à 15 minutes.

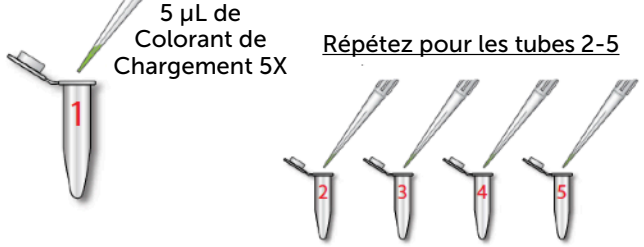
Préparer un gel d'agarose à 1% en utilisant le système de coulage MiniOne



**3** Retirez délicatement peigne du gel.  
Retirez le plateau de gel avec le gel solidifié.  
Essuyez l'excès d'agarose au fond du plateau.



**4** 5  $\mu$ L de Colorant de Chargement 5X  
Répétez pour les tubes 2-5



**5** Bouchez hermétiquement les tubes. Actionnez les 5 tubes pour mélanger les réactifs

8000 RPM  
15 secondes

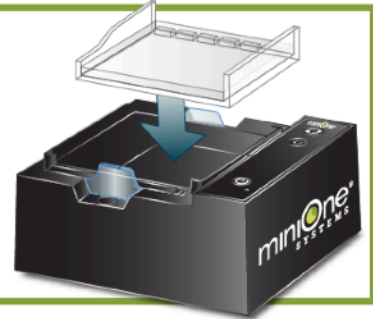


## Protocole expérimental

### Jour 2 : Visualisez vos résultats avec l'électrophorèse sur gel (suite)

Assurez-vous que les puits sont alignés avec les marques de la plate-forme d'observation noire à l'extrémité négative.

**6** Branchez l'alimentation électrique à l'arrière de la cuve d'électrophorèse MiniOne®. Branchez l'alimentation électrique. Placez le gel et le plateau de gel dans le réservoir.



**8** Chargez 10 µL de chaque échantillon selon le tableau 5



**7** Ajoutez 135 ml de tampon TAE



Placez le capot orange sur chariot et appuyez sur le bouton d'alimentation pour commencer à fonctionner. Faites migrer le gel pendant 20 minutes.

**10** Documentez les gels et discutez des résultats avec votre classe

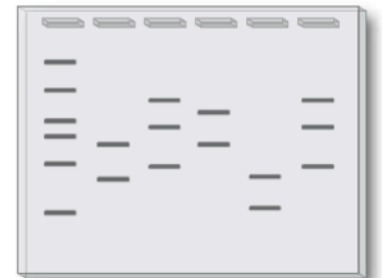


Tableau 5. Enregistrez l'échantillon chargé dans chaque piste

Piste	1	2	3	4	5	6
échantillon	Marqueur d'échantillon	10 cycles	15 cycles	20 cycles	25 cycles	30 cycles

## Feuille de travail sur l'analyse du gel

**Instructions :** Après avoir effectué la partie électrophorèse sur gel de ce MiniLab, enregistrez une image de votre gel et dessinez les résultats ou collez l'image sur le modèle ci-dessous :



Piste 1: \_\_\_\_\_

Piste 2: \_\_\_\_\_

Piste 3: \_\_\_\_\_

Piste 4: \_\_\_\_\_

Piste 5: \_\_\_\_\_

Piste 6: \_\_\_\_\_

## Questions d'analyse

1. Identifiez les bandes dans la piste du marqueur de taille. Les tailles des bandes dans le couloir de marquage sont de 100, 300, 500, 1000 et 2000 paires de bases (bp). Comparez le fragment d'ADN de chacune de vos réactions aux bandes du marqueur de taille pour estimer sa taille.
2. Dans lequel de tes échantillons peux-tu voir une bande ? Combien de cycles de PCR a-t-on fait subir à cet échantillon ? A partir de ce nombre, estime le nombre minimum de cycles nécessaires pour voir une bande.
3. L'évaluation de la luminosité relative des bandes à l'œil nu peut s'avérer délicate, mais elle est suffisante pour effectuer des observations approximatives. Si vous comparez deux bandes ayant une différence de cinq cycles, comment décririez-vous l'intensité relative de la fluorescence ? La bande la plus brillante est-elle cinq fois plus brillante ? Ou plus de cinq fois plus brillante ?
4. Sur la base de votre connaissance de la façon dont le nombre de copies augmente avec le nombre de cycles, dans quelle mesure vous attendriez-vous à ce qu'une bande à 20 cycles soit plus brillante qu'une bande à 15 cycles ? Pensez-vous que cette différence sera observée dans la réalité ?
5. Si vous continuez l'expérience pendant plusieurs cycles supplémentaires, en retirant les tubes après 30, 35, 45 cycles et ainsi de suite, pensez-vous que les bandes continueraient à s'éclaircir indéfiniment ? Pourquoi ou pourquoi pas ?

6. L'équipe qui a développé le système d'électrophorèse MiniOne a déterminé que la quantité minimale d'ADN nécessaire pour voir une bande est de 10 nanogrammes. Si vous vouliez calculer le nombre minimum de cycles nécessaires pour produire suffisamment d'ADN pour voir une bande (au lieu de le tester avec une expérience), quelles informations supplémentaires vous faudrait-il ?
  
7. Dans l'introduction, nous avons suivi un scénario dans lequel une seule copie de départ de l'ADN est utilisée comme matrice PCR. Dans cette réaction (et dans la plupart des réactions PCR que vous rencontrerez), vous commencerez avec des centaines ou des milliers de copies. Comment votre gel serait-il différent si vous aviez commencé avec une seule copie du génome lambda ?
  
8. Question de défi : Après avoir appuyé sur le bouton de pause de l'application mobile MiniOne PCR, la pause n'a pas commencé avant la fin de l'étape d'extension. Que se passerait-il si vous retiriez les tubes pendant l'étape de dénaturation ?



## Annexe A - Glossaire PCR

Term	Définition
Amorces	De courts morceaux d'ADN avec des séquences complémentaires aux séquences flanquant la région à copier. Les amorces sont conçues spécifiquement pour chaque réaction PCR en tenant compte de nombreuses variables, notamment la longueur, la teneur en nucléotides et les caractéristiques structurales. De nombreux outils informatiques sont disponibles pour aider à la conception des amorces.
Cycle	Un cycle se réfère à une série d'étapes de dénaturation, de recuit et d'extension de la réaction PCR. Le nombre de cycles nécessaires pour une réaction particulière dépend de la quantité d'ADN avec laquelle vous commencez et de la quantité d'ADN que vous essayez de produire. Avec une concentration de départ élevée, 20 à 25 cycles suffisent pour produire suffisamment d'ADN à visualiser sur un gel. Lorsque la concentration de départ est faible ou que de grandes quantités de produit sont nécessaires, 35 à 40 cycles peuvent être utilisés.
Denaturation	La dénaturation utilise une température élevée pour rompre les liens entre les bases sur les brins opposés. L'ADN double brin est divisé en ADN simple brin, exposant les bases afin qu'elles puissent être copiées. Les paramètres typiques sont de 90-98°C pendant 5-30 secondes par cycle. Denaturation
Dénaturation initiale	Lors de la copie d'un morceau d'ADN génomique, une étape initiale de dénaturation est souvent utilisée pour s'assurer que les longs brins d'ADN sont entièrement séparés et libérés des protéines liées avant le début du cycle thermique. Les réglages typiques sont de 90-96°C pendant 30 secondes à 10 minutes.
dNTPs	Les nucléotides, les éléments moléculaires de l'ADN.
Enzyme	Une enzyme est un catalyseur biologique qui accélère une réaction chimique sans changer les produits ou être consommé par la réaction. La plupart des enzymes sont des protéines et elles contrôlent un large éventail de réactions dans les cellules, de la copie de l'ADN à l'extraction de l'énergie des aliments.
Elongation	À environ 70 °C, la polymérase se met au travail et commence à ajouter des nucléotides (dNTP) à l'extrémité 3' des amorces recuites, copiant le brin complémentaire. Les réglages typiques sont de 72°C pendant 5 secondes - 5 minutes par cycle.
Elongation finale	Dans certains protocoles, une étape d'extension supplémentaire est utilisée. Celle-ci permet à la polymérase d'ajouter les paires de bases finales à l'extrémité des brins, ce qui est nécessaire dans certaines applications. La durée typique est de 2 à 10 minutes.
Hybridation	Lorsque la température d'une réaction PCR est abaissée, de courts morceaux d'ADN, appelés amorces, se lient à des séquences spécifiques du génome ciblant cette région à copier. La température d'hybridation est spécifique aux amorces utilisées dans votre réaction - la température typique est de 45 à 65°C pendant 5 à 30 secondes par cycle.
Monomère	Une molécule qui peut être liée à d'autres molécules similaires pour former un polymère.
Polymère	Molécule constituée de nombreuses unités similaires liées entre elles.
Matrice	ADN contenant la séquence qui sera copiée dans une réaction PCR. Il peut s'agir d'un court fragment ou d'un génome entier.
tampon	Un sel ajouté à une solution aqueuse qui aide à maintenir un pH constant. Les tampons sont essentiels dans la PCR car la fonction de l'Buffer
Thermocycleur	Également appelé appareil PCR, un thermocycleur est un instrument qui modifie automatiquement la température de la réaction PCR selon un programme défini par l'utilisateur. Il chauffe et refroidit la réaction entre les températures de dénaturation, de recuit et d'extension sur un nombre de cycles déterminé.

## Annexe B - Électrophorèse sur gel

L'électrophorèse sur gel est une technique utilisée dans de nombreux domaines scientifiques pour analyser les composants de mélanges chimiques complexes. Les mélanges d'ADN, d'ARN, de protéines ou de colorants peuvent être séparés en leurs composants individuels sur la base de la taille moléculaire et de la charge électrique en utilisant une matrice de séparation dans un champ électrique.

Le gel utilisé dans l'électrophorèse sur gel est un enchevêtrement de polymères formant une matrice tridimensionnelle avec des pores remplis d'eau à travers lesquels les molécules migrent. Une densité plus élevée de polymères crée des pores plus petits. Comme les trous d'un tamis ou d'une passoire, la taille des pores doit être adaptée à la taille des molécules à séparer. Les gels peuvent être fabriqués à partir de différentes substances selon l'application. L'un des matériaux les plus couramment utilisés et les plus efficaces est l'agarose, un polymère extrait d'algues marines. Les gels d'agarose sont formés (ou coulés) en versant de l'agarose fondu dans un plateau où il se solidifie en refroidissant pour prendre la forme souhaitée. Un peigne est placé pendant que l'agarose est fondu, puis retiré après sa solidification pour créer des puits où les échantillons sont chargés.

Après solidification du gel, celui-ci est placé dans un tampon électriquement conducteur entre des électrodes parallèles positives ((+) anode) et négatives ((-) cathode) Une tension est appliquée entre les électrodes, ce qui crée un champ électrique uniforme dans le gel. Les molécules dans les puits commencent à se déplacer sous l'influence du champ électrique : les molécules chargées positivement migrent vers la cathode (-) et les molécules chargées négativement migrent vers l'anode (+).

La vitesse de déplacement d'une molécule dans un champ électrique est déterminée par la force de sa charge électrique par rapport à son poids moléculaire. Cette force est quantifiée comme le rapport entre la charge et la masse. La vitesse de mouvement à l'intérieur d'un gel est également influencée par la taille de la molécule par rapport aux pores du gel. Les polymères dans le gel sont comme une course d'obstacles : les petites molécules se déplacent facilement à travers les pores, voyageant plus vite et plus loin que les grosses molécules volumineuses. Cependant, une grosse molécule peut se déplacer plus rapidement dans un gel qu'une petite molécule lorsque la force de sa charge par rapport à sa masse est nettement plus élevée. La forme peut également affecter la façon dont une molécule se déplace à travers le gel. Les longues molécules de type spaghetti se déplacent plus lentement que les molécules compactes, qui se glissent facilement à travers les pores. Les molécules de même taille, de même forme et de même charge se déplacent ensemble et forment une bande distincte. Si plusieurs types ou tailles de molécules sont présents dans l'échantillon, ils se sépareront les uns des autres et chacun d'eux formera une bande distincte.

## Annexe C - Captures d'écran de " pause" pour l'application PCR

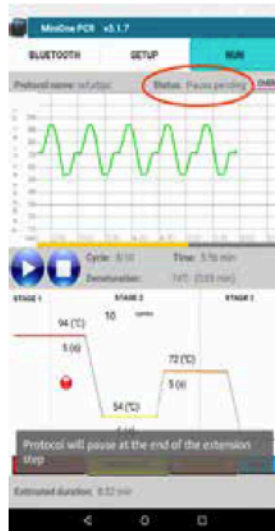
REMARQUE : Si vous appuyez accidentellement sur le bouton STOP au lieu de PAUSE, un avertissement vous demandant si vous voulez vraiment interrompre l'exécution s'affiche. Appuyez sur "NON" et vous reviendrez à votre protocole, et de là, vous pourrez sélectionner le bouton PAUSE.

### Amazon Fire

En Pause

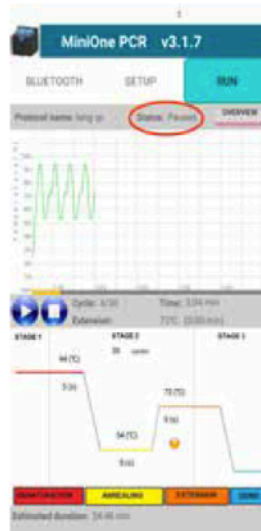


Pause en attente

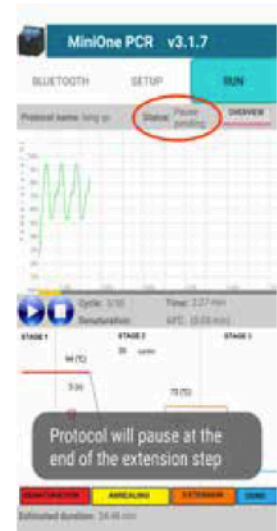


### Téléphone Android

En Pause

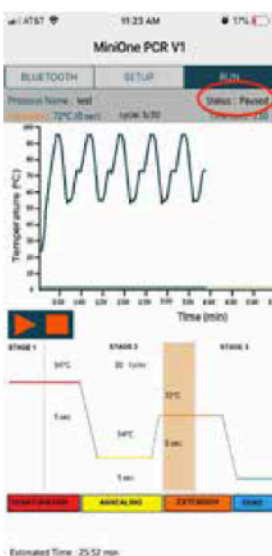


Pause en attente

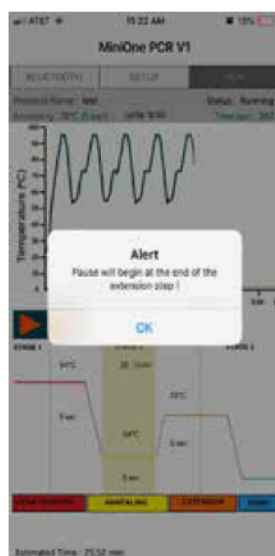


### iPhone

En Pause

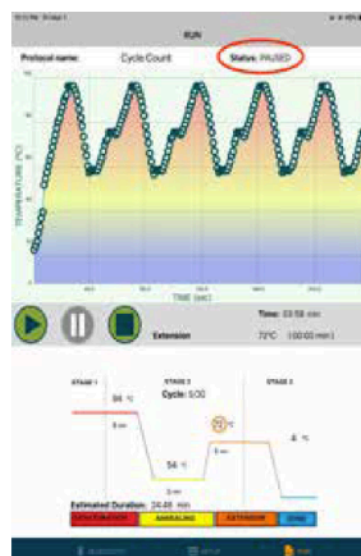


Pause en attente

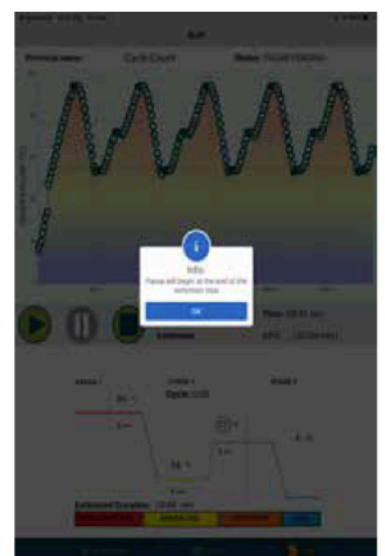


### iPad

En Pause



Pause en attente

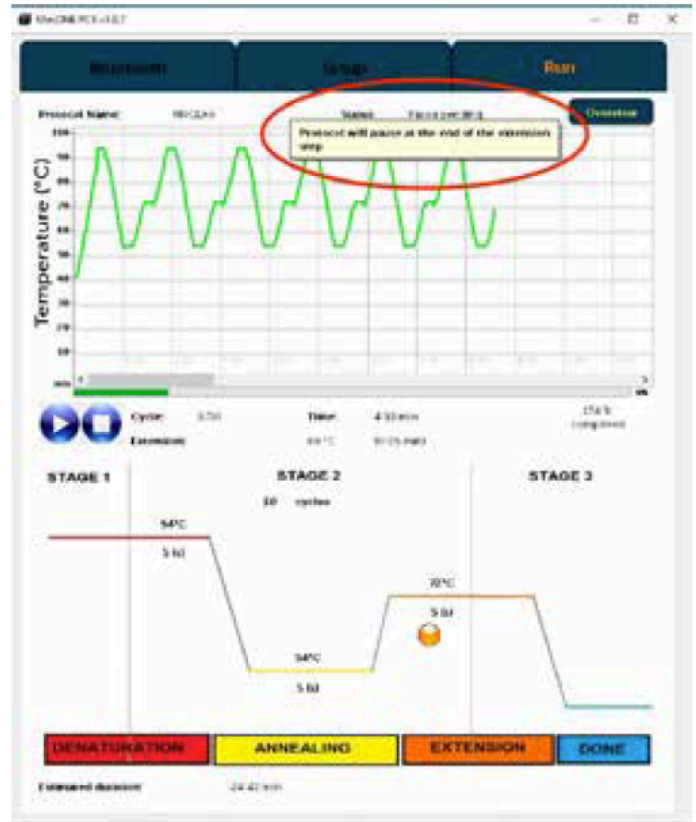


# Annexe C - Captures d'écran de " pause" pour l'application PCR (suite)

## PC

En Pause

Pause en attente



## Annexe D - Lectures recommandées

Scitable by Nature Education : Ressource utile pour une variété de sujets en biologie moléculaire.

<https://www.nature.com/scitable/content/gel-electrophoresis-is-a-laboratory-technique-used-116897192>

<https://www.nature.com/scitable/content/replication-7689643>

Chargement d'un échantillon d'électrophorèse d'ADN : Une vidéo rapide du Kirkwood Community College montre comment charger un gel d'électrophorèse horizontale d'ADN. Elle montre la technique appropriée et certaines erreurs courantes.

[www.youtube.com/watch?v=tTj8p05jAFM](http://www.youtube.com/watch?v=tTj8p05jAFM)

Jouez au jeu ADN - la double hélice : Dans ce jeu, votre tâche consiste d'abord à faire des copies exactes d'une molécule d'ADN à double brin en associant correctement les paires de bases à chaque brin, puis à déterminer à quel organisme appartient l'ADN.

[http://www.nobelprize.org/educational/medicine/dna\\_double\\_helix/index.html](http://www.nobelprize.org/educational/medicine/dna_double_helix/index.html)

DNA Learning Center : une animation illustrant l'amplification exponentielle et le mécanisme de la PCR :

<https://www.dnalc.org/resources/animations/pcr.html>



 [theminione.eu](http://theminione.eu)

 +32 475 36 68 34

 [info@theminione.eu](mailto:info@theminione.eu)

FastTaq, GreenGel et PrepOne sont des marques commerciales d'Embi Tec. GelGreen est une marque de commerce de Biotium. MiniOne est une marque déposée de C.C. IMEX.  
Brevets en instance.