

Corrigé-type de l'Examen de Biologie Moléculaire

Exercice 1 : (12 pts)

- **Cochez-la** ou les bonne(s) réponse(s) → (1 pts × 12)

1- Classez les vecteurs suivants par ordre décroissant de la longueur moyenne des inserts qu'ils peuvent contenir.

1 - cosmides

2 – phages

3 - plasmides

4 – YAC

A. 3-1-2-4

B. 4-1-2-3

C. 4-3-1-2

D. 3-4-2-1

E. 1-2-4-3

2- A propos des enzymes de restriction :

A. Elles peuvent couper de l'ARN.

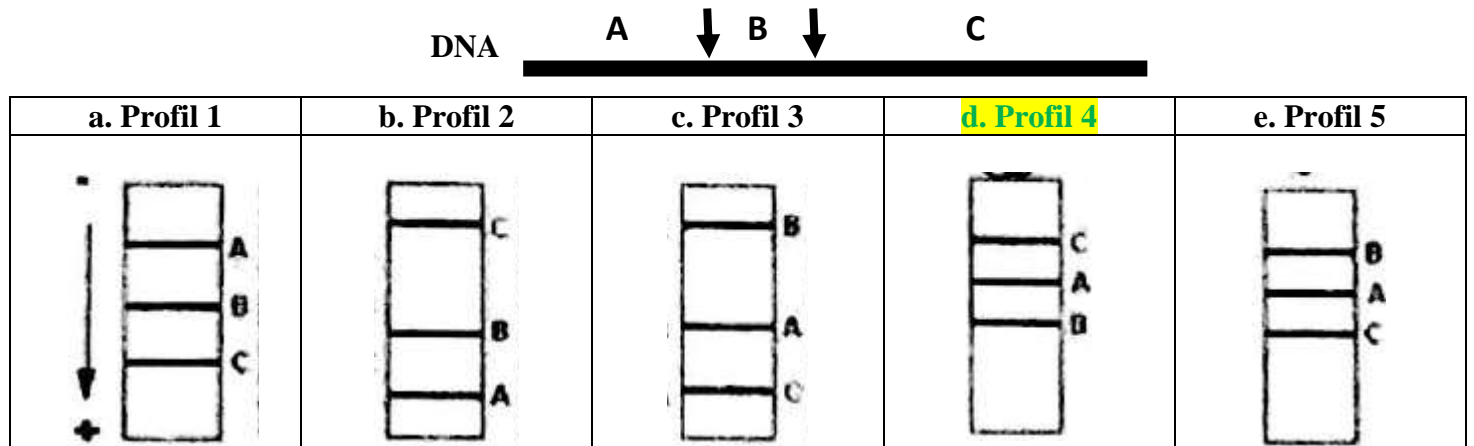
B. Elles peuvent couper de l'ADN simple brin.

C. Elles peuvent couper de l'ADN double brin.

D. Lorsqu'elles coupent un plasmide, elles le font le plus souvent au niveau d'une carte de restriction.

E. Deux isoschizomères reconnaissent la même séquence d'ADN.

3- La digestion d'un DNA par une enzyme de restriction a permis l'obtention de 3 fragments A, B et C de tailles différentes (voir figure). Séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%, le profil attendu correspondra à :



4- A propos des vecteurs et de leurs cellules-hôtes :

A. Le phage contient son ADN **monocaténaire** dans une capsid. (**Bicaténaire l'ADN de phage**)

B. **L'adénovirus** est un hybride plasmide / bactériophage. **C'est le cosmide et pas l'adinovirus**

C. L'ADN des plasmides est bicaténaire **linéaire**, et provient des bactéries. (**circulaire**)

D. Les colonies bactériennes Lac Z (-) sont **colorées** en bleu en présence de Beta-galactosidase.

E. Les colonies bactériennes Lac Z (+) sont **incolores** en présence de Beta-galactosidase.

F. Une cellule hôte idéale doit être compétente, de croissance exponentielle et non pathogène.

5- Indiquez parmi les enzymes listées ci-dessous ceux qui possèdent une activité de polymérase :

A. Sequenase

B. L'enzyme de Klenow

C. La nucléase S1

D. La T4 polynucléotide kinase

E. Le phosphatase

E. La T4 DNA ligase

6- En Biologie moléculaire, l'hybridation de type « Cot » est une association entre un :

A- ADN-ADN

B- ADN-ARN

C- ARN-ARN

D- Ribosonde-ADN

7- La séparation de fragments d'acides nucléiques :

A. Peut se faire soit sur gel d'acrylamide, soit sur gel d'agarose

B. Se fait en fonction de la longueur des fragments

C. Sur gel d'acrylamide permet l'étude de fragments d'ADN supérieur à 5000 pb → (500 pb)

D. Se fait du pôle (+) vers le pôle (-) selon la charge électrique globale de ces fragments → c'est l'inverse

8- La technique de PCR :

A. Est une amplification en chaîne par la phosphorylase ; c'est plutôt par la polymérase

B. Elle nécessite obligatoirement l'utilisation d'une ARN polymérase thermostable → ADN polymérase

C. Les amorces utilisées sont des oligonucléotides double-brin ; l'amorce (primer c'est tjrs monobrin)

D. L'élongation se fait dans le sens 3' → 5' ; c'est l'inverse de 5' → 3'

E. L'hybridation des amorces est une étape indispensable pour l'étape d'élongation

Exercice 2 : (8 pts)

1- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans la technologie de l'ADN recombinant (2pts)

Le phosphatase : pour éviter l'auto-ligation de plasmide, ce qui permet d'insérer l'ADN à cloner → 1 pts

X-Gal + IPTG : pour sélectionner les clones recombinants (criblage Bleu/Blanc) → 1 pts

2- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans l'Électrophorèse et la PCR (2pts)

Bromure d'éthidium (BET) : agent intercalant de l'ADN, capable de lier à l'ADN et qui va rendre l'ADN fluorescent sous lumière UV (visualisation). → 1 pts

Taq polymérase : : C'est une ADN polymérase thermostable (elle agit à une température voisine de 65 - 72°C), utilisé dans l'étape de polymérisation dans la technique de l'amplification génétique (PCR) → 1 pts

3- Deux fragments d'ADN dont la longueur est de 18 bases :

Fragment A : 5'CCCCGTTCTATCACCAGG3' ✓

Fragment B : 5'CCTATATCTACATATTCC3' ✓

- Calculer la Tm pour chaque fragment ? Qu'elle est le fragment qu'on peut utiliser comme amorce pour la PCR ?

Formule : $Tm = 2 \times (A + T) + 4 \times (G + C)$. → 1 pts

Fragment A (Tm) = $2 \times (7) + 4(11) = 14 + 44 = 58^\circ C$ → 1 pts

Fragment B (Tm') = $2 \times (12) + 4(6) = 24 + 24 = 48^\circ C$ → 1 pts

- Expliquez l'obtention de deux Tm différentes ? La différence entre les Tm et Tm' est attribuable à la différence en pourcentage de bases. En effet, l'augmentation de la proportion en GC augmente la Tm. → 1 pts