

**Série d'exercice N°1 (Biologie Moléculaire)**

**Exercice 1 :**

**Définissez les termes suivants :**

- **ADN recombinant, clonage, banque d'ADNc, banque génomique, vecteur**

**Exercice 2 :**

- **Cochez** la ou les bonne(s) réponse(s)

**1- Les cosmides sont des**

- a. vecteurs artificiels hybrides
- b. constitués d'un plasmide auquel a été ajouté le site COS du bactériophage lambda
- c. permettent le clonage de fragments d'ADN de grande taille

**2- Les banques YAC**

- a. correspond à des chromosomes artificiels de la bactérie
- b. permettant de cloner de grands fragments d'ADN de 500 kb
- c. utilisées pour cloner de petits fragments d'ADN de 500 pb

**3- Le phage  $\lambda$  (lambda)**

- a. possède un site COS
- b. est un phage à ADN double brin, circulaire
- c. possède un polylinker

**4- L'enzyme de Klenow**

- a. dépourvue de la fonction d'édition
- b. Possède l'activité exonucléase 5'-3'
- c. obtenu à partir de l'ADN polymérase I

**5- La rétrotranscriptase « RT » ou transcriptase inverse**

- a. est un enzyme isolé de rétrovirus
- b. permet de fabriquer un ADNc à partir d'un ARNm
- c. dépourvue de la fonction d'édition
- d. nécessite une amorce polyA

**6- Les enzymes de restriction sont**

- a. capables de couper des molécules d'ADN simple brin
- b. d'origine bactérienne et peuvent couper un ADN circulaire
- c. endonucléases spécifiques reconnaissent le plus souvent des palindromes

**7- Un cycle de PCR comprend, dans l'ordre, les étapes suivantes**

- a. dénaturation, hybridation avec des amorces puis dénaturation
- b. dénaturation, puis polymérisation puis hybridation avec des amorces
- c. dénaturation, formation d'ADN chimère puis polymérisation
- d. dénaturation, hybridation avec des amorces puis polymérisation
- e. dénaturation, polymérisation, séquençage

**Exercice 3 :**

1- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans la technologie de l'ADN recombinant

**Les phosphatases :** .....

.....

**Les ligases :** .....

**EcoRI :** .....

.....

**ARN polymérase :** .....

**Plasmide :** .....

.....

2- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans la PCR

**Taq polymérase :** .....

.....

**Exercice 3 :**

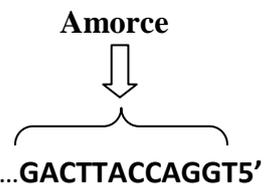
- On cherche de déterminer la séquence d'ADN isolée d'une plante transgénique monocotylédone (le **maïs bt** = maïs résistant à la pyrale) par la méthode de « **Sanger** », (voir l'électrophorèse).

ddA*TP	ddG*TP	ddT*TP	ddC*TP	M* (pb)
—				19 pb
	—			18 pb
			—	17 pb
—				16 pb
		—		15 pb
		—		14 pb
	—			13 pb

-

**Brin synthétique :**

**Brin parental :**



+

- **Déterminez** la séquence de l'ADN (le brin synthétique et le brin parental) ?

## Correction

### Exercice 1 : voir le cours

### Exercice 2 :

- **Cochez** la ou les bonne(s) réponse(s)

#### 1- Les cosmides sont des

- d. vecteurs artificiels hybrides
- e. constitués d'un plasmide auquel a été ajouté le site COS du bactériophage lambda
- f. permettent le clonage de fragments d'ADN de grande taille

#### 2- Les banques YAC

- d. correspond à des chromosomes artificiels de la bactérie
- e. permettant de cloner de grands fragments d'ADN de 500 kb
- f. utilisées pour cloner de petits fragments d'ADN de 500 pb

#### 3- Le phage $\lambda$ (lambda)

- d. possède un site COS
- e. est un phage à ADN double brin, circulaire
- f. possède un polylinker

#### 4- L'enzyme de Klenow

- d. dépourvue de la fonction d'édition
- e. Possède l'activité exonucléase 5'-3'
- f. obtenu à partir de l'ADN polymérase I

#### 5- La rétrotranscriptase « RT » ou transcriptase inverse

- e. est un enzyme isolé de rétrovirus
- f. permet de fabriquer un ADNc à partir d'un ARNm
- g. dépourvue de la fonction d'édition
- h. nécessite une amorce polyA

#### 6- Les enzymes de restriction sont

- d. capables de couper des molécules d'ADN simple brin
- e. d'origine bactérienne
- f. endonucléases spécifiques

#### 7- Un cycle de PCR comprend, dans l'ordre, les étapes suivantes

- f. dénaturation, hybridation avec des amorces puis dénaturation
- g. dénaturation, puis polymérisation puis hybridation avec des amorces
- h. dénaturation, formation d'ADN chimère puis polymérisation
- i. dénaturation, hybridation avec des amorces puis polymérisation
- j. dénaturation, polymérisation, séquençage

### Exercice 2 :

1- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans la technologie de l'ADN recombinant

**Phosphatase : utilisé pour déphosphoryler un vecteur que l'on vient d'ouvrir par un enzyme de restriction, afin d'éviter une re-fermeture de ce vecteur (auto-ligation) qui empêcherait alors d'insérer le fragment d'ADN à étudier.**

**Ligase** : pour coller (souder) deux fragments d'ADN (le vecteur et l'insert) et ceci en présence d'ATP.

**EcoRI** : utilisé pour couper le vecteur au niveau des endroits spécifiques (site de restriction) en générant des extrémités à bouts cohésives ce qui permet d'insérer l'ADN à cloner.

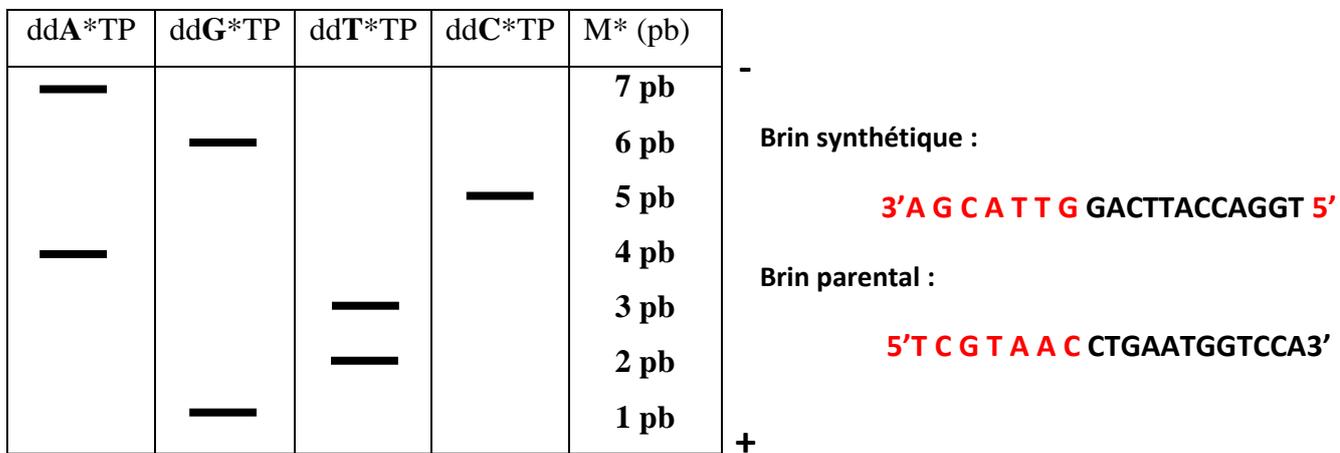
**Plasmide** : utilisé comme un vecteur (support) dans lequel on peut insérer le fragment de l'ADN à étudier  
Et possède un gène de sélection qui permet de sélectionner les cellules transformées.

2- Justifier l'utilisation des éléments suivants dans la PCR

**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).

### Exercice 3 :

- On cherche de déterminer la séquence d'ADN isolée d'une plante transgénique monocotylédone (le **maïs bt** = maïs résistant à la pyrale) par la méthode de « **Sanger** », (voir l'électrophorèse).



- **Déterminez** la séquence de l'ADN (le brin synthétique et le brin parental) ?