

TD N°04

Exercice 1 :

-Soit l'ADN linéaire suivant :

-----NNNNNNNNNNNACGCCAAGCTTGGCTGCANNNNNNNNNNN-----

-----NNNNNNNNNNNNTGCGGTTCGAACCGACGTNNNNNNNNNN-----

-Soit les enzymes suivants avec leurs sites de reconnaissance et de restriction :

NcoI coupe entre deux cytosine : CCATGG

Hind III coupe entre deux adénine : AAGCTT

-Donnez les résultats des expériences suivantes en indiquant les séquences des extrémités :

- 1- Digestio par NcoI.
- 2- Digestion par Hind III.
- 3- Digestion par Hind III+Nucléase S1.
- 4- Digestion par Hind III+Nucléase S1+ ADN ligase.
- 5- Digestion par Hind III+Nucléase S1 + ADN ligase ensuite Hind III.
- 6- Digestion par Hind III+Nucléase S1 + ADN ligase ensuite Hind III.

Exercice 2 :

En étudiant une bactérie, vous isolez un plasmide qui pourrait héberger des gènes conférant la résistance plusieurs antibiotiques. Vous décidez de réaliser la carte de restriction de ce plasmide. Les tailles des fragments de restriction sont déterminées partir de leur mobilité électrophorétique en gel d'agarose.

Enzymes de restriction	Taille des fragments (Kb)
EcoRI	5,4
HindIII	2,1-1,9-1,4
SaII	5,4
EcoRI+HindIII	2,1-1,4-1,3-0,6
EcoRI+SaII	3,2-2,2
SaII+HindIII	1,9-1,4-1,2-0,9.

- 1- Qu'est-ce qu'une carte de restriction ?
- 2- Construire la carte de restriction du plasmide.

Exercice 3 :

- 1- Identifiez les étapes du programme PCR suivant en indiquant son nom dans le tableau.
- 2- Décrivez pour chaque étape ce qui se produit dans le tube de réaction.

Tableau : Programme PCR

Etapas	Température	Temps
	94°C	2 minutes
	94°C	10 secondes
	52°C	30 secondes
	68°C	1 minute
	68°C	10 minutes
	4°C	Jusqu'à l'analyse