



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2023 – 2024

Unité d'Enseignement Spécialité Pharmacie

Annales classées corrigées : ADN recombinant et
biotechnologies

Sujet

Question 19 – Quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s)

Un insert, fragment d'ADN double brin de 450 pb ne possède pas de site de restriction EcoRI et doit être cloné dans le vecteur lambda GT11. Les extrémités de l'insert sont franches. Ce vecteur ne possède qu'un site de restriction unique, EcoRI, localisé au niveau du gène Lac Z'.

- A. Les extrémités non digérées de l'insert sont modifiées par la nucléase S1.
- B. Des adaptateurs contenant le site de restriction EcoRI sont ligués aux extrémités de l'insert.
- C. Le criblage basé sur la couleur des colonies est possible car LacZ' code une bêta-galactosidase active.
- D. L'ADN recombinant est encapsidé in vitro pour infecter des bactéries hôtes.
- E. X-gal est un répresseur.

Question 20 – Concernant les phagemides, quelle(s) est(sont) la(les) proposition(s) exacte(s)

- A. Ils possèdent une origine de réplication M13 mutée
- B. Ils peuvent se comporter comme des plasmides dans une bactérie
- C. Ils peuvent conduire à la formation de particules phagiques simple brin si la bactérie est également infectée par un phage helper
- D. Le phage helper code pour les protéines du phage
- E. Ils conduisent à la lyse de la bactérie

Question 5

Concernant les phagemides, quelle(s) est(sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. ils peuvent être utilisés comme des plasmides
- B. leur origine de répllication M13 (ou F1) permet de répliquer l'ADN sous forme de simple brin
- C. lorsqu'ils sont utilisés pour produire des particules phagiques recombinantes, les bactéries doivent être infectées par un phage helper
- D. le phage helper possède une origine de répllication M13 non mutée
- E. l'ADN du phage helper est répliqué sous forme d'ADN double brin dans la bactérie

Question 6

Concernant l'ADN recombinant, quelle(s) est(sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. les séquences « T7 » et « SP6 » trouvées de part et d'autre du site de clonage multiple permettent de transcrire l'ADN insert en ARN
- B. le plasmide « pGEM-T Easy » permet de cloner facilement les produits PCR possédant en 3' un nucléotide à adénine supplémentaire
- C. les levures auxotrophes pour le tryptophane poussent sur des milieux de cultures ne contenant pas de tryptophane
- D. les enzymes de restriction sont des exonucléases
- E. la séquence GCCG est un palindrome

Question 19

Un ADN insert possède vers chacune de ses extrémités un site de restriction reconnu par SmaI (CCC/GGG). Il est digéré par cette enzyme. Le plasmide utilisé pour le clonage possède au niveau de son polylinker des sites de restriction BamHI (G/GATCC), XhoI (C/TCGAG). Quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. La nucléase S1 permet de modifier les extrémités digérées de l'insert.
- B. Si le plasmide est linéarisé avec XhoI, l'insert peut y être ligaturé sans modification de ses extrémités.
- C. L'activité ADN polymérase de la T4 ADN polymérase peut être utilisée pour modifier les extrémités digérées de l'insert.
- D. Le plasmide et l'insert sont déphosphorylés par la phosphatase alcaline avant la ligation.
- E. L'enzyme SmaI génère des extrémités franches.

Question 20

Concernant l'ADN recombinant, quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. Pour réaliser un criblage bleu-blanc, la bactérie hôte doit produire une bêta-galactosidase endogène active.
- B. Sur le plasmide pUC, lacZ' et son promoteur/opérateur dérivent de l'opéron lactose.
- C. L'opéron lactose possède un gène dont le produit d'expression est la bêta-galactosidase.
- D. L'opérateur est une séquence de régulation de la transcription.
- E. Lorsque le lactose est scindé par la bêta-galactosidase, il donne un produit bleu.

Question 21

Concernant le phage lambda et ses vecteurs dérivés, quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A. Sur le génome du phage lambda, les gènes regroupés dans la partie centrale codent des produits impliqués dans le cycle lytique.
- B. Pour construire ces vecteurs dérivés, il est possible de déléter la partie centrale du génome du phage.
- C. Dans les vecteurs de la série EMBL, le bras B du génome est remplacé par l'ADN à cloner.
- D. Avec les vecteurs lambda GT11, les plages de lyse peuvent être criblées selon leur couleur.
- E. La taille de l'ADN à cloner est sans limite.

Énoncé commun aux questions 18 et 19 :

Un ADN insert, double brin, doit être cloné dans le vecteur lambda GT11 au niveau de l'unique site EcoRI (G/AATTC) présent dans le gène LacZ'. LacZ' est sous le contrôle d'un promoteur et d'un opérateur. L'ADN insert comporte un site EcoRI vers chacune de ses extrémités.

Question 18

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. L'ADN insert peut avoir une taille de 200kb.
- B. Après coupure de l'ADN insert par EcoRI, des extrémités franches sont obtenues.
- C. Après ligation de l'ADN insert, un concatémère recombinant peut être obtenu.
- D. L'ADN recombinant peut infecter une bactérie sans être encapsidé *in vitro*.
- E. Après ligation, l'ADN insert est orienté dans l'ADN de lambda GT11.

Question 19

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Pour réaliser un criblage sur la base de la couleur des plages de lyse, des bactéries *E. coli* delta M15 doivent être utilisées.
- B. L'ADN insert ligaturé dans le gène LacZ' permet l'alpha-complémentation.
- C. L'IPTG est un répresseur.
- D. X-gal est un substrat chromogène de la bêta-galactosidase.
- E. Le bactériophage lambda possède un ADN double brin ayant des extrémités cohésives naturelles.

Énoncé des questions 16 et 17

Un ADN insert, double brin, possède un site de restriction reconnu par PvuI (CGAT/CG) vers son extrémité 5', et un site PstI (CTGCA/G) vers son extrémité 3'. Cet insert est cloné dans le plasmide pBR322 aux sites PvuI et PstI situés uniquement dans le gène de résistance à l'ampicilline. Ce plasmide possède également un gène de résistance à la tétracycline et un site ORI.

Question 16

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les bactéries hôtes utilisées pour le clonage doivent être sensibles à l'ampicilline et résistantes à la tétracycline.
- B. Après ligation de l'insert dans pBR322, l'insert est orienté.
- C. Une enzyme de restriction qui reconnaît la séquence CGA/TCG est isoschizomère de PvuI.
- D. Après coupure par PvuI, des extrémités 3' sortantes sont générées.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Sur une gélose contenant de la tétracycline, seules les bactéries non recombinantes peuvent former des colonies.
- B. Sur une gélose contenant de l'ampicilline et de la tétracycline, seules les bactéries recombinantes forment des colonies.
- C. Les bactéries non transformées forment des colonies sur une gélose contenant de l'ampicilline.
- D. Sur une gélose contenant de l'ampicilline et de la tétracycline, les colonies non recombinantes sont bleues.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le peptide alpha de la bêta galactosidase codé par LacZ' possède une activité enzymatique.
- B. Au cours d'une « miniprep », l'ADN génomique de la bactérie est dénaturé sélectivement par l'utilisation de soude pendant un temps court.
- C. La T4 ADN polymérase possède une activité ADN polymérase de 5' vers 3'.
- D. Les YAC sont des chromosomes artificiels de bactéries.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Énoncé pour les questions n°16 et n°17

Un ADN insert, double brin, possède deux sites de restriction reconnus par EcoRI (G/AATTC), l'un étant situé vers son extrémité 5', l'autre vers son extrémité 3'. Cet insert est cloné dans un cosmide au site EcoRI.

Question 16

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. EcoRI est la cinquième enzyme de restriction découverte chez *E. coli*.
- B. Pour limiter la formation de cosmide non recombinant, il faut déphosphoryler les extrémités 5' du cosmide après digestion par EcoRI et avant la réaction de ligation.
- C. Après ligation, deux cosmides recombinants différents sont obtenus.
- D. La ligation peut être réalisée indifféremment avec la T4 ADN ligase ou l'ADN ligase d'*E. coli*.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. Le cosmide est un vecteur dérivé du phage M13.
- B. Les Cosmides possèdent des sites COS qui leur permettent d'être encapsidés *in vitro* et d'infecter des bactéries.
- C. Chez les bactéries, le rendement de la transformation est supérieur au rendement de l'infection.
- D. Les bactéries contenant un cosmide produisent des particules phagiques dérivant de ce cosmide.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. Pour transformer des bactéries par choc thermique, il faut au préalable les rendre compétentes.
- B. Dans des bactéries delta M15, l'alpha complémentation est possible si elles sont transformées par un plasmide pUC où l'ADN insert est cloné dans le gène « lacZ' ».
- C. Un ADN double brin digéré par BamHI (G/GATCC) possède des extrémités qui peuvent être converties en extrémités franches grâce à la nucléase S1.
- D. Un ADN double brin digéré par SacI (GAGCT/C) possède des extrémités qui peuvent être converties en extrémités franches grâce à la T4 ADN polymérase.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Énoncé pour les questions n°16 et n°17 :

Le site de restriction CCC/GGG est reconnu par l'enzyme de restriction SmaI. Le site de restriction C/CCGGG est reconnu par l'enzyme de restriction XmaI.

Question 16

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Ces sites de restriction sont des palindromes.
- B. Après coupure par SmaI, des extrémités cohésives sont obtenues sur l'ADN coupé.
- C. Après coupure par XmaI, des extrémités 5' sortantes sont obtenues sur l'ADN coupé.
- D. Ces deux enzymes sont des enzymes compatibles.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Pour cloner un ADN de 5kb, un plasmide pUC est utilisé. Dans son polylinker se trouve, entre autres, un site de restriction reconnu par XmaI. L'insert sera ligé au site XmaI. Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Après ligation, l'insert est orienté dans le plasmide.
- B. Après ligation, on obtient, entre autres, deux plasmides recombinants différents.
- C. L'insert ligé dans le plasmide est bordé à chacune de ses extrémités par un site de restriction XmaI.
- D. Le(s) site(s) de restriction présent(s) aux extrémités de l'insert après ligation dans le plasmide peut(vent) être reconnu(s) par SmaI.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant les vecteurs M13mp dérivant du bactériophage M13, indiquez parmi les propositions suivantes, celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Ils sont constitués d'ADN simple brin.
- B. Ils ne possèdent pas d'origine de réplication.
- C. Ils contiennent tous les gènes du phage M13.
- D. Introduits dans une bactérie, ces vecteurs correspondent en quelque sorte à la forme répliquative du phage M13.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 16

Concernant les cosmides, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. Leur ADN contient les séquences cos du phage lambda.
- B. Ce sont des vecteurs artificiels.
- C. Leur ADN peut être encapsidé *in vitro*.
- D. La taille de l'ADN insert doit être comprise entre 35 et 45 kb.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. La nucléase S1 peut convertir des bouts francs d'un ADN insert en bouts cohésifs.
- B. La T4 ADN polymérase possède une activité de polymérisation 3' vers 5'.
- C. L'origine de réplication d'un plasmide permet de sélectionner les plasmides recombinants.
- D. Les bactéries *E.coli* utilisées pour le clonage ont le génotype RecA-.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant le bactériophage M13, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. Il contient une molécule d'ADN simple brin.
- B. Il infecte les bactéries porteuses d'un pili.
- C. Après l'infection d'une bactérie, la libération des nouveaux bactériophages M13 induit la lyse bactérienne.
- D. La forme répliquative de son ADN est de l'ADN double brin.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Énoncé pour les questions n°16 et n°17

Un ADN double brin à cloner possède vers l'une de ses extrémités une séquence reconnue par l'enzyme de restriction PstI et vers l'autre extrémité une séquence reconnue par l'enzyme de restriction XhoI. Il est digéré par ces deux enzymes.

Le polylinker du plasmide pUC utilisé pour le clonage est également digéré par PstI et XhoI. Ce polylinker se trouve au sein du gène *LacZ'*. *LacZ'* est sous le contrôle d'un promoteur et d'un opérateur (provenant de l'opéron lactose). Le gène de résistance à l'ampicilline est l'unique marqueur de sélection de ce plasmide.

La séquence d'ADN reconnue par PstI est CTGCA/G, celle reconnue par XhoI est C/TCGAG

Question 16

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les extrémités du plasmide générées après digestion par les enzymes de restriction PstI et XhoI devront obligatoirement être déphosphorylées pour éviter l'autoligation du plasmide après addition de ligase.
- B. Les enzymes de restriction PstI et XhoI sont des endonucléases.
- C. L'ADN à cloner sera orienté dans le plasmide.
- D. La T4 ADN ligase pourra être utilisée pour la ligation de l'ADN à cloner dans le plasmide.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Sur une gélose nutritive complétée en tétracycline, seules les bactéries transformées formeront des colonies.
- B. *Lac Z'* code le peptide alpha de la bêta-galactosidase.
- C. Le criblage bleu/blanc des colonies est possible si la gélose nutritive est complétée uniquement en IPTG.
- D. Sur une gélose nutritive complétée de façon adéquate, les colonies bleues sont non recombinantes.
- E. Toutes les propositions précédentes.

Question 18

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le bactériophage M13 est un phage filamenteux.
- B. Les bactéries infectées par les vecteurs dérivés du phage lambda forment des colonies sur gélose.
- C. La nucléase S1 dégrade l'ADN simple brin
- D. Le vecteur pGEM-T Easy (plasmide T) peut permettre de cloner des produits PCR.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 16

Le plasmide pGEM-T Easy (plasmide T) possède une origine de réplication de type plasmide reconnue par la machinerie enzymatique bactérienne, un gène de résistance à l'ampicilline et le gène lacZ'. Au sein de lacZ' se trouve, entre autres, un polylinker. Ce polylinker est également bordé de part et d'autre par les promoteurs T7 et SP6.

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Ce plasmide possède à chacune de ses extrémités 5' un nucléotide supplémentaire à adénine.
- B. Il est possible de cloner dans ce plasmide de l'ADN amplifié par PCR si cet ADN amplifié possède à chacune de ses extrémités 3' un nucléotide supplémentaire à adénine.
- C. Il est possible de transcrire l'ADN cloné à l'aide de la SP6 ADN polymérase.
- D. La sélection des colonies de bactéries transformées s'effectue sur gélose contenant de la tétracycline.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Concernant l'extraction-purification des plasmides par la méthode « miniprep », parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est(sont) exacte(s) :

- A. La lyse bactérienne se réalise à l'aide d'un détergent et par action mécanique.
- B. Après la lyse bactérienne, le plasmide est linéarisé.
- C. La méthode repose sur la dénaturation sélective de l'ADN génomique par une solution acide.
- D. Le lysat clair obtenu est purifié par chromatographie.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les vecteurs dérivés du bactériophage lambda sont constitués d'ADN simple brin.
- B. Avant une transformation par choc thermique, les bactéries doivent être rendues compétentes.
- C. La séquence d'ADN, AACC, est une séquence palindromique.
- D. X-Gal est un substrat chromogène de la β -galactosidase.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Enoncé des questions 16 et 17

La séquence d'ADN reconnue par l'enzyme de restriction BamHI est G/GATCC et celle reconnue par MboI est /GATC.

Question 16

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les enzymes de restriction sont des exonucléases.
- B. Après coupure au niveau de sa séquence, BamHI génère des extrémités 3' sortantes.
- C. Les extrémités sortantes générées par BamHI peuvent être converties en bouts francs par l'utilisation de la T4 ADN polymérase et de dNTP.
- D. Les enzymes de restriction BamHI et MboI sont des enzymes compatibles.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

L'ADN à cloner (appelé insert) possède à chacune de ses extrémités une séquence reconnue par BamHI. Le plasmide utilisé pour le clonage de l'insert contient un site BamHI dans son polylinker.

Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les extrémités du plasmide générées après digestion par BamHI seront déphosphorylées pour éviter l'autoligation du plasmide.
- B. La ligation de l'insert dans le plasmide peut se faire à l'aide de la T4 ADN ligase.
- C. Après la réaction de ligation de l'insert dans le plasmide, l'insert ne sera pas orienté dans le plasmide.
- D. Après la réaction de ligation de l'insert dans le plasmide, un mélange de plasmides recombinants et de plasmides non recombinants est obtenu.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant le clonage d'un fragment d'ADN de 200 kb, parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Il peut être cloné dans le plasmide pUC.
- B. Il peut être cloné dans un cosmide.
- C. Il peut être cloné dans un BAC, chromosome artificiel de bactérie.
- D. Les BAC se maintiennent à une ou deux copies par bactérie.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 16

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. L'ADN à cloner est inséré dans un plasmide au niveau du site ORI.
- B. Après la réaction de ligation d'un insert dans un plasmide, un mélange de plasmides recombinants et de plasmides non recombinants est obtenu.
- C. Juste après la transformation de bactéries par un mélange de plasmides recombinants et de plasmides non recombinants, 3 types de bactéries sont présents dans un milieu liquide non sélectif.
- D. Une bactérie non transformée contient des plasmides non recombinants.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 17

Concernant le plasmide pBR322, parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Il contient deux gènes de résistance à des antibiotiques.
- B. L'insertion de l'ADN à cloner peut se faire dans l'un des gènes de résistance aux antibiotiques.
- C. Les colonies recombinantes sont repérées sur la base de leur couleur blanche ou bleue.
- D. Il contient des sites de restriction uniques regroupés dans un polylinker.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 18

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. L'hôte cellulaire d'un vecteur de type BAC est une levure.
- B. Les vecteurs dérivés du phage lambda peuvent être des vecteurs d'insertion ou des vecteurs de délétion remplacement.
- C. L'ADN d'un cosmide se réplique comme un plasmide à l'intérieur d'une bactérie.
- D. La séquence d'ADN « CCGG » est un palindrome.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 14

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Le clonage acellulaire de l'ADN se réalise à l'aide de vecteurs et de cellules hôtes.
- B. Le site ORI d'un plasmide permet de sélectionner les bactéries recombinantes.
- C. La T4 ADN polymérase en présence des 4 dNTP convertit des bouts 5' sortants en bouts francs.
- D. Le principe d'extraction et de purification des plasmides par « miniprep » est basé sur la dénaturation sélective de l'ADN génomique de la cellule hôte.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 15

Concernant l'ADN recombinant, parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Toutes les enzymes de restriction de type 2 génèrent des extrémités cohésives.
- B. Sur une gélose contenant X-Gal, IPTG et ampicilline, les colonies de bactéries delta M15 contenant un plasmide pUC recombinant sont de couleur blanche.
- C. Grâce à leur séquence COS, les cosmides peuvent être encapsidés *in vitro*.
- D. Les vecteurs BAC et YAC permettent de cloner de très grands fragments d'ADN.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 19

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

A propos de l'obtention de protéines recombinantes par génie génétique :

- A. Une enzyme de restriction de type II est une endonucléase capable de couper l'ADN double brin en un site particulier, le site de restriction.
- B. Un vecteur d'expression comporte des séquences supplémentaires par rapport à un vecteur de clonage, en particulier une origine de réplication.
- C. Si le marqueur de sélection d'un vecteur de clonage est un gène de résistance à l'ampicilline, les bactéries transformées par un vecteur non recombinant seront sensibles à l'ampicilline.
- D. Les protéines recombinantes produites chez *Escherichia coli* peuvent s'accumuler sous forme d'agrégats insolubles, appelés corps d'inclusion.
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses.

Question 20

Parmi les propositions suivantes, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- A. Les immunoglobulines sont constituées de 4 chaînes polypeptidiques identiques
- B. Les chaînes lourdes d'immunoglobulines sont codées par les segments de gènes V, D, J et C
- C. 75% de la séquence d'un anticorps monoclonal chimérique est humaine
- D. Les anticorps monoclonaux recombinants humanisés peuvent être obtenus par CDR grafting
- E. Toutes les propositions précédentes sont fausses