



Tutorat Lyon Est

Année Universitaire 2023 – 2024

Unité d'Enseignement Spécialité Pharmacie

Annales classées corrigées : ADN recombinant et
biotechnologies

Correction détaillée

Correction rapide

<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>	<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>
Annale 2022-2023 Examen terminal			
19	BD		
20	BCD		
Annale 2021-2022 Examen de rattrapage		Annale 2016-2017	
5	ABCE	16	BCD
6	AB	17	BD
Annale 2021-2022 Examen terminal		18	ABCD
19	E	Annale 2015-2016	
20	BCD	16	B
21	BCD	17	AD
Annale 2020-2021 PASS		18	BD
18	C	Annale 2014-2015	
19	ADE	16	CD
Annale 2020-2021 PACES		17	ABCD
16	BD	18	CD
17	E	Annale 2013-2014	
18	C	16	BC
Annale 2019-2020		17	AB
16	BCD	18	BCD
17	B	Annale 2012-2013	
18	AC	14	CD
Annale 2018-2019		15	BCD
16	A	Annale 2011-2012	
17	BC	19	A(D)
18	CD	20	BD
Annale 2017-2018			
16	ABCD		
17	D		
18	ABD		

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

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. De 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.

A FAUX La nucléase S1 dégrade spécifiquement les extrémités simples brins, dites cohésives, et ici on a au contraire des extrémités franches

B VRAI

C FAUX LacZ' ne code pas une bêta-galactosidase active mais uniquement un de ses peptides, le peptide alpha, ce qui permet d'utiliser ce qu'on appelle « l'alpha-complémentation » pour différencier les colonies recombinantes des non recombinantes.

D VRAI

E FAUX X-gal est un substrat chromogène qui, si découpé par une bêta-galactosidase, libère un dérivé indolyde bleu.

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

- A. Ils possèdent une origine de répllication 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.

A FAUX Ils possèdent une origine de répllication M13 ou F1 **supplémentaire** en plus d'une autre origine de répllication de type plasmide.

B VRAI

C VRAI Le phage helper est indispensable pour la réalisation d'un cycle viral au sein de la bactérie hôte.

D VRAI voir C, c'est le rôle du phage helper de permettre l'encapsulation du vecteur pour qu'il puisse sortir de la bactérie et aller en infecter d'autres.

E FAUX Le cycle viral se fait dans une bactérie vivante et ne la tue pas.

Annale 2021-2022 Examen de rattrapage

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

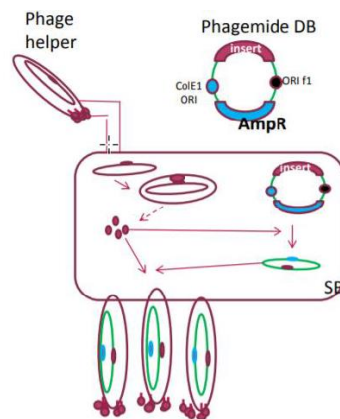
A VRAI. En effet, ils ont une origine de répllication de type plasmide et un gène de résistance.

B VRAI. Les phagemides possèdent une origine de répllication de type M13 qui leur permet d'obtenir de l'ADN recombinant simple brin, encapsidé et donc infectieux.

C VRAI, ce dernier apporte le gène codant les protéines nécessaires à l'accomplissement d'un cycle viral. Ainsi il sera possible d'obtenir une grande quantité d'ADN simple brin encapsidé.

D FAUX, c'est le phagemide pblue qui contient l'origine de répllication M13

E VRAI, comme on peut le voir dans ce schéma du cours de la Pr. A. MULARONI :



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

A VRAI. Les promoteurs SP6 et T7 situés de part et d'autre du site de clonage permettent d'obtenir des ARN de l'ADN cloné quand ils sont reconnus par les ARN polymérase SP6 ou T7.

B VRAI, caractéristique principale du plasmide T : plasmide possédant à chacune de ses extrémités 3' un nucléotide supplémentaire à thymine. Cela facilite donc la ligation de l'insert dans le vecteur.

C FAUX, une souche est dite auxotrophe lorsqu'elle présente une mutation qui rend impossible la synthèse des métabolites essentiels à sa survie.

D FAUX, ce sont des endonucléases.

E FAUX car sa séquence complémentaire est 3'-CGGC-5' et donc on ne peut pas lire la même chose sur la séquence de l'item.

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.

A FAUX. La nucléase S1 permet de transformer les extrémités cohésives en franches. Or, si l'on digère notre insert, on obtient déjà des extrémités franches.

B FAUX, les séquences ne sont pas complémentaires.

C FAUX. Comme pour l'item A, la T4 polymérase permet de convertir des extrémités cohésives en franches.

D FAUX, la phosphatase permet justement d'éviter la ligation.

E VRAI. Effectivement, (CCC/GGG) sont 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.

A FAUX, sinon on ne peut pas différencier les plasmides recombinants des non recombinants.

B VRAI, lacZ' est une petite partie du gène LacZ de l'opéron lactose, lequel gène code pour une bêta-galactosidase. Le gène LacZ' ne code que pour le peptide alpha de cette enzyme.

C VRAI

D VRAI. Attention à ne pas mélanger l'opérateur avec le promoteur, qui indique quel gène doit s'exprimer.

E FAUX. Un produit bleu est obtenu si l'on ajoute dans le milieu de culture un substrat chromogène : le X-gal. Ce substrat est incolore mais son clivage par la bêta-galactosidase libère un dérivé indolyde de couleur bleue.

Question 21

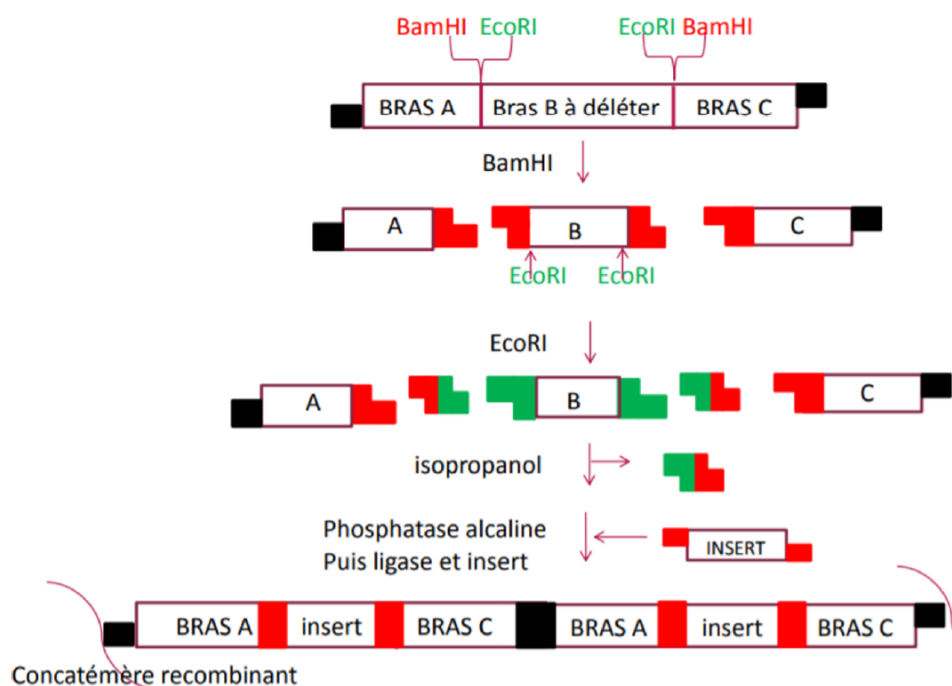
Concernant le phage lambda et ses vecteurs dérivés, quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) :

- 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.

A FAUX, ce sont les gènes sur le bras droit qui codent des produits impliqués dans le cycle lytique.

B VRAI. En effet, une grande partie des gènes de la partie centrale n'est pas essentielle pour la multiplication lytique du phage.

C VRAI, cf le schéma ci-dessous tiré du cours de la Pr. A. MULARONI :



D VRAI. En effet, dans ce cas, les plages de lyses recombinantes sont incolores (attention pas blanches, ce sont les colonies recombinantes qui sont blanches) et les non-recombinantes sont bleues.

E FAUX, jusqu'à 20 kpb pour EMBL.

Le gène Lac Z' code pour ce peptide alpha qui complète la bêta-galactosidase tronquée de la bactérie delta M15. Donc lorsqu'une cellule-hôte intègre un vecteur NON RECOMBINANT portant Lac Z', il y a une alpha-complémentation entre le peptide alpha codé par Lac Z' du vecteur, et la bêta-galactosidase mutée de la cellule-hôte. Cela permet d'obtenir une bêta-galactosidase active, et donc capable de cliver le X-Gal, substrat chromogène devenant bleu lorsque clivé par cette enzyme.

Cependant, si le gène Lac Z' du vecteur est inactivé par l'insertion d'ADN, alors l'alpha-complémentation ne peut pas avoir lieu et la bêta-galactosidase reste inactive. Donc le X-Gal ne devient pas bleu.

Donc ici, si une plage de lyse est bleue, cela signifie que la bactérie est non-recombinante, et si la plage de lyse est blanche cela signifie que la bactérie est recombinante.

On peut donc maintenant répondre aux questions.

Question 18 : C

A FAUX L'ADN insert d'un vecteur dérivé de lambda tel que lambda GT11 ne peut pas avoir une taille supérieure à 8 kb.

B FAUX On obtient des extrémités cohésives car EcoRI ne coupe pas au milieu de son site de restriction.

C VRAI.

D FAUX Si l'ADN recombinant n'est pas encapsidé, il n'est pas infectieux et ne pourra donc pas infecter la bactérie.

E FAUX Comme une seule enzyme de restriction est utilisée, les extrémités sont donc cohésives et complémentaires. Ainsi l'ADN insert ne sera pas orienté dans le plasmide.

Question 19 : ADE

A VRAI Voir l'explication plus haut pour plus de détails.

B FAUX L'ADN insert ligaturé dans le gène Lac Z' inactive justement la synthèse du peptide alpha impliqué dans l'alpha-complémentation.

C FAUX L'IPTG se fixe justement sur le répresseur de l'opérateur afin de lever la répression de la synthèse du peptide alpha. C'est un inducteur.

D VRAI X-Gal donne un composé bleu quand il est clivé par la bêta-galactosidase.

E VRAI Les extrémités cohésives s'associent pour former le site cos.

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

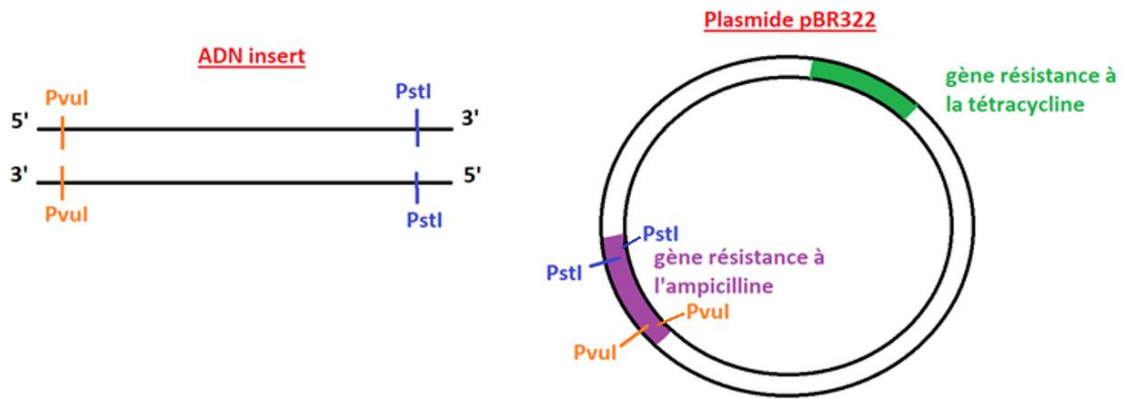
Parmi les propositions suivantes, indiquez celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- 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.

Correction des questions 16 et 17

Question 16 : BD

Le premier réflexe à avoir face à ce type d'exercice est de schématiser l'ADN insert et le plasmide :



Ce qu'on constate, c'est que **les bactéries possédant la version non recombinante de ces plasmides sont résistantes à la tétracycline et à l'ampicilline**. Cependant les sites de reconnaissance aux enzymes de restriction qui permettront l'insertion de l'ADN sont dans le gène de résistance à l'ampicilline. Donc chez les plasmides recombinants le gène de résistance à l'ampicilline sera désactivé (l'ADN s'insérera en plein milieu de ce gène). ==> **Les bactéries recombinantes seront sensibles à l'ampicilline (mais toujours résistantes à la tétracycline)**.

On se demande ensuite de quelle manière l'ADN sera inséré dans le plasmide : est-ce qu'il sera orienté ou non ?

Rappel : L'insert est non orienté si ses extrémités et celles du plasmide sont franches ou bien cohésives et complémentaires. En revanche il est orienté lorsque ses extrémités et celles du plasmide sont cohésives et non complémentaires.

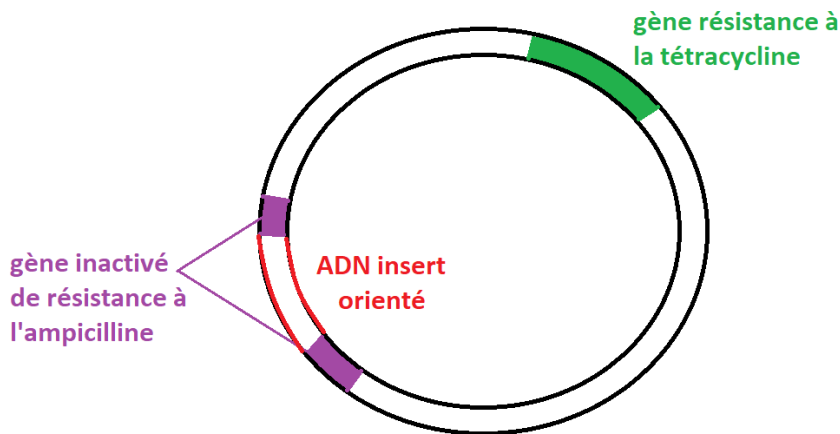
On s'intéresse donc à la manière dont les enzymes de restriction vont venir couper leur site de reconnaissance :



On voit que, pour les deux enzymes, les extrémités formées sont cohésives (les bords ne finissent pas en face, la séquence palindromique de reconnaissance n'est pas coupée en son milieu). On voit aussi qu'elles ne sont pas complémentaires. ==> **L'ADN insert sera donc orienté dans le plasmide**.

Le plasmide recombinant est donc le suivant :

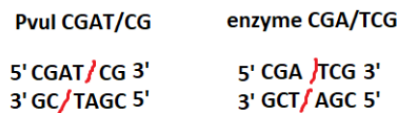
Plasmide pBR322 recombinant



A FAUX les bactéries-hôtes sont résistantes à la tétracycline ET à l'ampicilline.

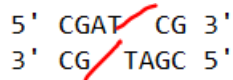
B VRAI car les deux enzymes de restriction donnent des extrémités cohésives mais non complémentaires. (voir au-dessus explicitation)

C FAUX elle est néoschizomère. Elles reconnaissent bien la même séquence mais ne la coupent pas de la même manière, comme observé sur le schéma suivant :



L'enzyme PvuI donne des extrémités cohésives, et l'enzyme CGA/TCG des extrémités franches.

D VRAI une coupure par PvuI donne des extrémités 3' sortantes :



E FAUX la B et la D sont vraies.

Question 17 : E

A FAUX toutes les bactéries transformées (recombinantes et non-recombinantes) peuvent former des colonies sur la tétracycline car elles sont toutes résistantes à cet antibiotique.

B FAUX seules les bactéries non recombinantes forment des colonies en présence d'ampicilline : les recombinantes sont sensibles à l'ampicilline car l'ADN insert désactive leur gène de résistance à cet antibiotique.

C FAUX ce sont les bactéries **transformées et non recombinantes** qui forment des colonies sur une gélose contenant de l'ampicilline.

D FAUX le repérage des bactéries transformées grâce au clivage d'un substrat chromogène s'effectue lorsque le plasmide contient le gène Lac Z'. Ce n'est pas le cas ici ; les bactéries transformées sont repérées grâce à leur résistance à la tétracycline et sensibilité à l'ampicilline.

E VRAI.

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.

A FAUX seul il n'a aucune activité enzymatique ; Il doit être complété à la bêta-galactosidase pour que celle-ci puisse couper le lactose.

B FAUX ce n'est pas l'utilisation de soude qui dénature l'ADN génomique de la bactérie, mais l'utilisation de SDS. La soude ne sert qu'à maintenir le pH du milieu entre 12 et 12,5, zone de pH pour laquelle le SDS dénature l'ADN génomique mais pas les plasmides.

C VRAI c'est une polymérase donc elle commence la polymérisation en 5'P et finit en 3'OH

D FAUX des chromosomes artificiels de levures (Y pour *yeast*, qui veut dire levure en anglais).

E FAUX la C est vraie.

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) :

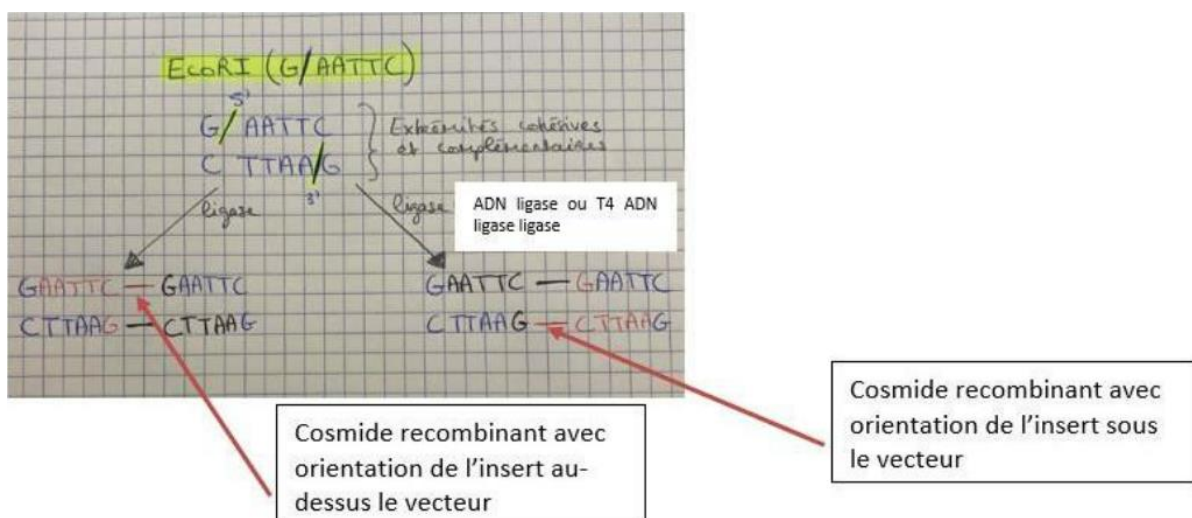
- A. EcoRI est la cinquième enzyme de restriction découverte chez *E. coli*.
- B. Pour limiter la formation de cosmide non recombinant, il faut déphosphoryler les extrémités 5' du cosmide après digestion par EcoRI et avant la réaction de ligation.
- C. Après ligation, deux cosmides recombinants différents 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.

A FAUX, d'après la nomenclature des enzymes de restriction, le chiffre romain à la fin correspond à l'ordre de découverte de ces enzymes chez l'espèce d'intérêt. Ici, il s'agit d'un I, donc EcoRI est la **première** enzyme de restriction découverte chez *E. coli*.

B VRAI après digestion par une enzyme de restriction, les extrémités générées peuvent avoir la possibilité de se religater sans avoir intégré l'ADN insert ; on obtient à ce moment-là un vecteur non-recombinant. **Afin d'éviter ce phénomène de religation, on utilise une phosphatase alcaline afin de retirer le phosphate en 5'.**

C VRAI le vecteur et l'ADN insert sont coupés par la même enzyme de restriction. Ainsi, les extrémités cohésives générées sont complémentaires. **Pour des extrémités cohésives et complémentaires, l'ADN étranger peut être inséré de deux manières différentes dans le vecteur.** Ainsi, deux cosmides recombinants sont bien obtenus ; un pour chaque sens d'insertion de l'ADN étranger.

Sur le schéma ci-dessous, l'insert (en rouge) peut se positionner au-dessus ou en-dessous du vecteur.



Voici ci-dessous un tableau récapitulatif des ligations possibles de l'ADN étranger :

Extrémités cohésives et complémentaires	Deux sens d'insertion possibles = deux vecteurs recombinants différents
Extrémités franches	Deux sens d'insertion possibles = deux vecteurs recombinants différents
Extrémités cohésives et non complémentaires	Un seul sens d'insertion possible = un seul vecteur recombinant

D VRAI L'ADN ligase d'*E. coli* est utilisée pour lier les extrémités cohésives et la T4 ADN ligase peut être utilisée aussi bien pour lier les extrémités franches que pour lier les extrémités cohésives.

E FAUX Car les propositions B, C et D sont vraies.

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.

A FAUX C'est un vecteur dérivé du phage lambda.

B VRAI Il s'agit d'un item de cours, les sites COS du cosmide proviennent du phage lambda, chez lequel ils permettent l'encapsidation de son ADN.

C FAUX Il s'agit de l'inverse. En effet, contrairement à la transformation l'infection est un processus qui se déroule naturellement : il est naturel pour les bactériophages de réussir à pénétrer à l'intérieur des bactéries, ils sont équipés pour cela.

D FAUX Il s'agit d'une propriété des phages, mais rien dans le cours ne laisse supposer qu'il s'agit d'une propriété gardée dans les cosmides.

E FAUX Car la réponse B est vraie.

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 SmaI (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.

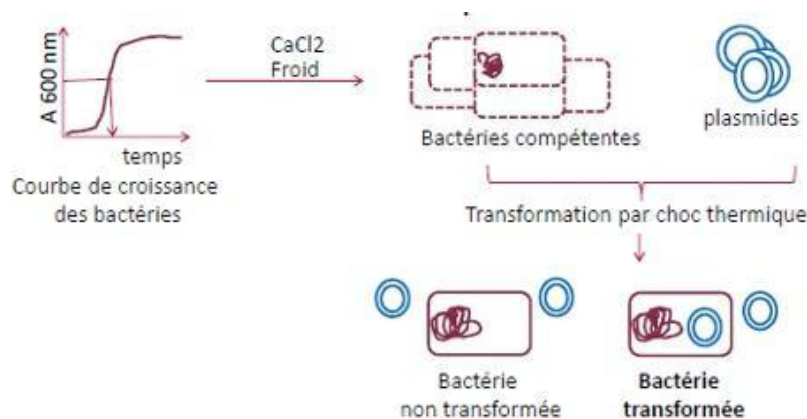
A VRAI Étapes de transformation des bactéries par choc thermique :

Étape 1 : Incubation avec du chlorure de calcium froid (CaCl_2 à 4°C) → Microperforations dans la paroi

de la cellule hôte (ici une bactérie) : La bactérie est ainsi dite compétente pour la transformation.

Étape 2 : L'ADN plasmidique est ajouté et l'incubation se poursuit sur la glace.

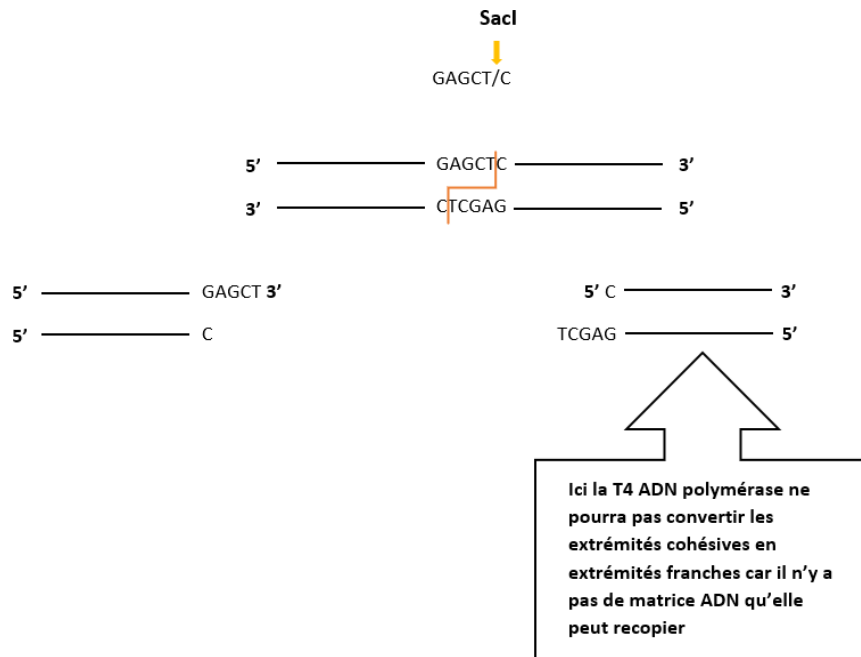
Étape 3 : Pénétration de l'ADN (donc du vecteur) dans la bactérie lorsque la suspension subit un choc thermique ($37\text{-}42^\circ\text{C}$). On obtient ainsi des bactéries transformées et aussi des bactéries non transformées.



B FAUX Dans les cellules delta M15, il faut bien différencier entre un cas où le plasmide est recombinant ou bien non recombinant. Ici le plasmide est recombinant, Lac Z' est donc aboli par la présence de l'ADN insert. Il n'y a ainsi pas de peptide alpha et donc pas d'alpha complémentation. Dans ce cas ici il n'y a pas de Beta galactosidase opérationnelle.

C VRAI BamHI coupe au niveau de l'extrémité 5', formant ainsi des extrémités à bouts cohésifs. La nucléase S1 est une enzyme permettant de convertir des extrémités cohésives, en extrémités franches, comme c'est le cas ici.

D FAUX SaclI coupe au niveau de l'extrémité 3', formant ainsi des extrémités à bouts cohésifs. Or, la T4 ADN polymérase est une enzyme permettant de convertir des extrémités cohésives, en extrémités franches. Cependant, la T4 ADN polymérase se place à extrémité 3'OH et polymérise dans le sens 5' vers 3' en recopiant une matrice d'ADN. Sauf qu'ici, la T4 ADN ligase n'a pas de matrice d'ADN pour polymériser. Dans ce cas, elle ne pourra pas convertir les extrémités cohésives en extrémités franches.



E FAUX

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.

Correction des questions 16 et 17

Question 16 : A

A VRAI

→ 5' CCC | GGG 3'

3' GGG | CCC 5' ←

Les flèches représentent le sens de lecture : toujours de **5' en 3'** !

Rappel définition d'un palindrome : mots pouvant être lus de droite à gauche ou de gauche à droite (ex : radar). En biologie moléculaire, ce sera une séquence d'ADN à **symétrie inversée** : Séquence identique sur chacun des brins lorsqu'elle est lue dans le même sens dans les deux brins. (3' ou 5').

B FAUX

Après coupure par SmaI, des **extrémités franches** (=bouts francs) sont obtenues sur l'ADN coupé.

C FAUX

Car on a \rightarrow 5' C CCGGG 3'

3' GGGCC C 3' \leftarrow

D FAUX

Les enzymes de restrictions compatibles sont des enzymes de restrictions qui, bien que reconnaissant des sites de restriction différents, génèrent des fragments aux **extrémités cohésives** et **complémentaires** qui pourront par la suite être ligaturés, ce qui n'est pas le cas ici

E FAUX

Question 17 : BC

A FAUX

On a :

- La séquence, C | CCGGG qui possède une extrémité 5' sortante (*cf question précédente*) ;
- De plus, il s'agit d'une extrémité **Cohésive** et **Complémentaire** (*cf aussi question précédente*) ;
- Alors la ligation peut se faire directement ;
- La séquence est coupée avec **une seule** enzyme de restriction XmaI. Donc l'insert n'est **pas** orienté dans le plasmide.

B VRAI

Deux insertions sont possibles ici, donc on aura deux plasmides recombinants différents.

C VRAI

D FAUX

Après ligation il n'y a **pas** de reconnaissance possible par SmaI car on a des liaisons phosphodiester entre 5'P et 3'OH. Cela a entraîné une recircularisation donc la reconnaissance est impossible.

E FAUX

Question 18

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

- Il s'agit d'ADN simple brin.
- Il n'a pas d'origine de réplication.
- Il contient tous les gènes du phage M13.
- Introduits dans une bactérie, ces vecteurs correspondent en quelque sorte à la forme répliquative du phage M13.
- Toutes les propositions précédentes sont fausses.

A FAUX. Ils sont constitués d'ADN double brin.

B FAUX. Ils possèdent une origine de réplication. Ici on parle des vecteurs M13mp dérivant du bactériophage M13 pas du bactériophage M1

C VRAI

D VRAI

E FAUX

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.

A VRAI. les cosmides sont des vecteurs artificiels constitués d'un plasmide auquel ont été ajoutées les séquences cos du phage lambda.

B VRAI. comme expliqué à la question précédente.

C VRAI. et ceux grâce aux séquences cos.

D VRAI.

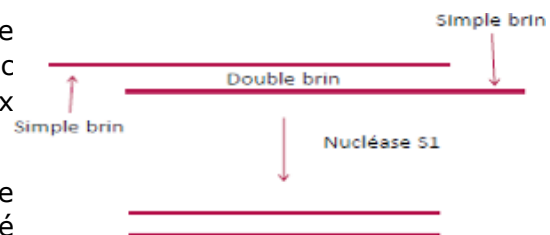
E FAUX.

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.

A FAUX. c'est une enzyme qui dégrade spécifiquement l'ADN simple brin. Elle permet donc de n'obtenir que de l'ADN double brin aux extrémités franches.



B FAUX. elle possède une activité de polymérisation 5' → 3'. C'est l'activité exonucléasique qui fonctionne en 3' → 5', attention à ne pas confondre.

C FAUX. l'origine de réplication permet au vecteur de se répliquer dans la cellule hôte.

Dans la stratégie de sélection des plasmides recombinants on peut faire appel à des marqueurs de sélection comme les gènes de résistance aux antibiotiques (*exemple du vecteur pBR322*) ou le gène Lac Z' (*exemple du vecteur pUC*).

D VRAI. elles ont aussi le génotype -Res.

E FAUX.

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.

A VRAI. Les bactériophages M13 sont des phages monobrins ou phages filamenteux.

B VRAI.

C FAUX. La libération des particules phagiques ne lysent pas la bactérie !! C'est d'ailleurs un des avantages de cette technique car l'ADN libéré, ne provoquant pas de lyse bactérienne, est facilement purifiable.

D VRAI. Petit rappel sur le fonctionnement :

- L'ADN du phage (monobrin) pénètre dans la bactérie ;
- L'ADN se transforme en ADN double brin (+ et -) : c'est la forme répliquative qui est produit en centaines d'exemplaires ;
- Simultanément à cette répliquative les protéines du phage s'expriment.

E FAUX.

Enoncé 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.

Correction des questions 16 et 17

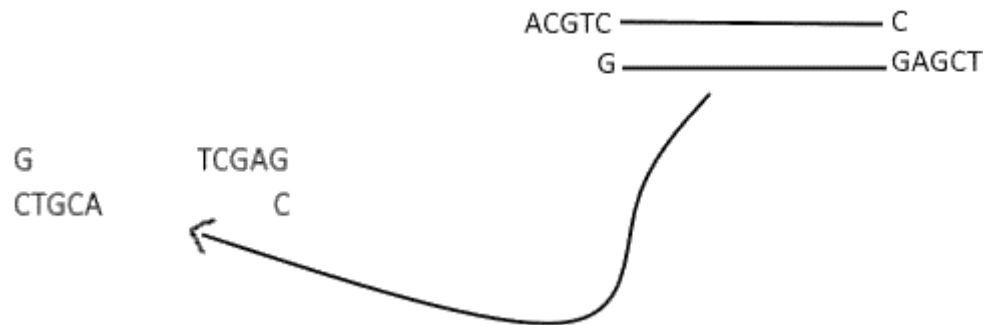
Question 16 : BCD

A FAUX. Dans notre cas nous avons deux enzymes aux extrémités cohésives et non complémentaires (ou non compatibles). Ainsi aucune auto-ligation ne se produit entre les deux extrémités, donc aucune obligation d'utiliser une enzyme déphosphorylante.



B VRAI. Les deux molécules sont des enzymes de restriction, or les enzymes de restriction sont des endonucléases.

C VRAI. Nous avons utilisé deux enzymes non compatibles ainsi, l'insert sera forcément orienté.



D VRAI. Cette enzyme est capable de lier des bouts cohésifs.

E FAUX.

Question 17 : BD

A FAUX. Dans notre cas les cellules transformées auront un plasmide qui possède un gène de résistance à l'ampicilline et non à la tétracycline.

B VRAI. A savoir par cœur.

C FAUX. Il faut aussi du **X-gal** qui est la substance chromogène. Sans elle rien n'est visible.

D VRAI. C'est vrai car si une colonie est bleue cela signifie qu'il a eu une alpha-complémentation et donc que le gène LAC Z est opérationnel et donc qu'il n'y a eu aucune recombinaison dans ce gène. Ainsi une colonie bleue est bien une colonie non recombinante.

E FAUX.

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.

A VRAI. C'est du cours **ATTENTION ! Phage filamenteux = phage monobrin.**

B VRAI.

C VRAI.

D VRAI. Dans certaines situations, la PCR donne à son produit sur les extrémités en 3' un nucléotide en plus : une adénine.

E FAUX.

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.

Cet exercice reprend l'exemple d'un plasmide particulier cité dans le cours : le plasmide pGem -T Easy qui fait partie de la famille des plasmides T.

A FAUX. L'énoncé précise qu'il s'agit d'un plasmide T. Or ces plasmides possèdent à chacune de leur extrémité 3' un nucléotide supplémentaire à thymine → l'item est doublement faux.

B VRAI. Un ADN qui possède en 3' un nucléotide supplémentaire à adénine est compatible pour une utilisation dans un plasmide T. Les plasmides T ont été créés dans ce but, voilà l'explication complète du cours si besoin :

Certaines enzymes utilisées au cours de la PCR permettent d'obtenir un produit PCR possédant à chacune de ses extrémités 3' un nucléotide supplémentaire à adénine. Pour faciliter le clonage de tel produit PCR, les chercheurs ont développées des plasmides possédant à chacune de leur extrémité 3' un nucléotide supplémentaire à thymine, cela facilite donc la ligation de l'insert dans le vecteur.

C FAUX. D'après l'énoncé, « ce polylinker est bordé de part et d'autre par les promoteurs T7 et SP6 » il est donc possible de transcrire l'ADN cloné à l'aide de la SP6 ARN polymérase.

D FAUX. Le gène LacZ' permet d'utiliser le criblage bleu-blanc pour la sélection des bactéries transformées

E FAUX

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.

A VRAI. Les cellules contenant les plasmides sont lysées par un détergent : le SDS. Lors de la lyse, l'action mécanique a aussi une utilité : elle permet de distinguer le chromosome bactérien qui est alors peu fragmenté et présent sous forme de fragments d'ADN linéaires de grande taille, alors que le plasmide de petite taille est présent sous forme circulaire.

B FAUX. Après la lyse bactérienne, le chromosome bactérien est linéarisé et le plasmide est sous forme circulaire.

C FAUX. La méthode repose bien sur la dénaturation sélective de l'ADNg mais on utilise une solution **basique** (pH entre 12 et 12,5).

D VRAI. En résumé, l'**ADN génomique** et les **contaminants macromoléculaires co-précipitent** et le plasmide reste en solution. Le précipité est éliminé après centrifugation et l'ADN plasmidique est récupéré dans le surnageant que l'on appelle aussi le **lysat clair** : ce lysat ne contient que très peu de contaminants. Le plasmide est ensuite purifié par **chromatographie**. La chromatographie sur gel de silice permet l'absorption sélective du plasmide sur la silice, les contaminants sont non retenus sur la silice, la silice est lavée et enfin le plasmide est élué.

E FAUX

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.

A FAUX. Les vecteurs dérivés du bactériophage lambda sont constitués d'ADN double brin.

B VRAI. Les bactéries en phase exponentielle de croissance sont incubées en présence de chlorure de calcium froid (CaCl_2 à 4°C) ce qui crée des micro-perforations dans leur paroi : on dit qu'elles sont rendues compétentes pour la transformation.

C FAUX. Les palindromes sont constitués de motifs de séquence de 4 à 8 paires de bases présentant un axe de symétrie inversée : ce sont des **palindromes**, AATT ou GGCC sont des palindromes mais pas AACC.

D VRAI. Lors du criblage bleu / blanc : l'activité bêta-galactosidase est facilement détectée si l'on ajoute dans le milieu de culture un substrat chromogène : le **X-gal**. Ce substrat est incolore mais son clivage par la **bêta-galactosidase** libère un dérivé de couleur bleu.

E FAUX

Énoncé 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.

Correction des questions 16 et 17

Question 16 : CD

A FAUX. Les enzymes de restriction sont des endonucléases.

B FAUX. Ce sont des extrémités 5' sortantes.

C VRAI. On convertit les extrémités sortantes en bouts francs par l'utilisation de T4 ADN polymérase et dNTP.

D VRAI, puisqu'elles contiennent toutes les deux le motif "GATC".

E FAUX

Question 17 : ABCD

A VRAI

B VRAI

C VRAI

D VRAI

E FAUX

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.

A FAUX, 200 kb est trop grand pour un clonage Puc.

B FAUX, ce n'est pas la bonne taille.

C VRAI, puisque c'est inférieur à 300 kb.

D VRAI

E FAUX

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.

A FAUX. L'ADN à cloner est inséré dans le MCS (ou polylinker).

B VRAI

C VRAI : bactéries non transformées, bactéries transformées non recombinantes et bactéries transformées recombinantes.

D FAUX. Une bactérie non transformée ne possède pas de vecteur du tout.

Rappel – après transformation on obtient 3 types de bactéries :

- Recombinantes : elles possèdent un vecteur recombinant ;
- Non recombinantes : possèdent un vecteur non recombinant ;
- Non transformées : elles n'ont pas incorporé de vecteur du tout.

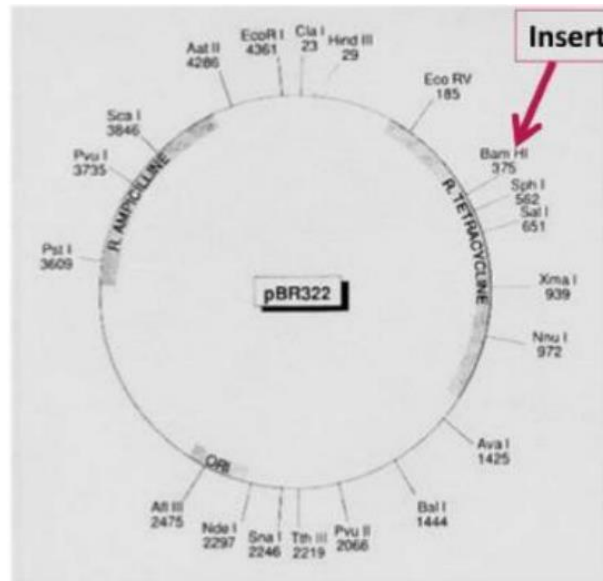
Question 17

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.

La sélection des colonies recombinantes se fait selon la sensibilité des colonies aux antibiotiques : en effet, le plasmide pBR322 possède deux gènes de résistances aux antibiotiques à l'intérieur desquels se trouvent des sites de restriction. L'ADN insert va donc être inséré au niveau de l'un de ses gènes. Cela va avoir pour conséquence de désactiver ce gène. Ainsi, après transformation :

- Les bactéries ayant incorporées un vecteur recombinant seront résistantes à un seul des antibiotiques ;
- Les bactéries ayant incorporées un vecteur non recombinant seront résistantes aux deux antibiotiques.



On constate par ailleurs que le vecteur pBR322 n'ayant pas de gène LacZ', la sélection par criblage bleu/ blanc est impossible !

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.

A FAUX. BAC = Chromosome Artificiel de Bactérie → son hôte cellulaire est donc une bactérie (ce sont les YAC qui sont incorporé dans des levures).

Rappel – pour les phages lambda, on peut supprimer la partie centrale de l'ADN. On peut le faire de deux façons :

- Soit on l'enlève et on la remplace on obtiendra alors des vecteurs de délétion remplacement (pouvant accueillir un insert de 20kb) ;
- Soit on ouvre le plasmide à cet endroit grâce à un site de restriction et on ajoute l'ADN, ce sera alors un vecteur d'insertion (qui peut contenir un insert de 8kb).

Les cosmides sont des hybrides entre le vecteur dérivé du phage et le plasmide : ils possèdent les séquences cos du phage lambda qui permette l'encapsidation in vitro de l'ADN et ils peuvent se répliquer comme un plasmide dans une bactérie.

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.

A FAUX, il s'agit du clonage **cellulaire**.

B FAUX, il permet la réplication du plasmide dans les bactéries recombinantes.

C VRAI.

D VRAI : on dénature l'ADN génomique sans dénaturer les plasmides.

E FAUX

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.

A FAUX, elles peuvent aussi générer des extrémités franches.

B VRAI, car l'insertion de l'ADN étranger dans les plasmides pUC se fait dans le gène LacZ', ce qui empêche la synthèse du peptide alpha et, par suite, l'alpha complémentation et le fonctionnement des bêta-galactosidases qui clivent le X-Gal en substrat bleu.

C VRAI.

D VRAI. BAC = chromosome artificiel de bactérie et YAC = chromosome artificiel de levure (levure = *yeast* en anglais).

E FAUX

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.

A VRAI.

B FAUX.

C FAUX, elles seront résistantes à l'ampicilline. Au contraire, dans le cas d'un vecteur recombinant, la bactérie sera sensible à l'ampicilline car le gène de résistance sera inactivé par l'insertion d'ADN étranger.

D VRAI.

E FAUX

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

A FAUX, elles sont constituées de 2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères.

B VRAI

D VRAI

E FAUX