

Exercice 1

BamH1
SmaH1
EcoR1
BamH1
Rsa 1

---ATG**GATCC**ATCG**CCCGGG**ATTTG**AATTC**G**GATCC**GTTATGCG**GTAC**ATAGC----
 ---TAC**CTAGG**TAGC**GGGCCC**TAAACT**TAAAG**C**CTAGG**CAATACG**CATG**TATCG----

5' ATGGATCCATCG**CCC** 3' 5'**GGG**ATTTG**AATTC**G**GATCC**GTTATGCG**GTAC**ATAGC 3'
 3' TACCTAGGTAGC**GGG** 5' 3'**CCCT**AAACTTAA**G**CCTAG**G**CAATACG**CATG**TATCG 5'

Espèces bactériennes/souche	Nom de l'enzyme	Séquences de reconnaissance et sites de clivage
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H	Bam H1	
<i>Escherichia coli</i> Ry13	Eco R1	
<i>Providencia stuartii</i> 164	Pst 1	
<i>Serratia marcescens</i> SB	Sma H1	
<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>	Rsa 1	

Fragment A

----GAATTCC**CGGG**GAT
 ----CTTAAGG**GCC**CTA

Fragment B

AGCTT**ATCG**ATCCCGAG----
 TCGAAT**AGCT**AGGGGCTC----

1 ligase et des enzymes et sites de coupure:

AluI	HpaII	EcoRI	ClaI	SmaHI
AG/CT	C/CGG	G/AATTC	AT/CGAT	CCC/GGG

➤relier directement par la ligase en bord francs... peu probable

➤digérer: fragment A par HpaII

--- B par ClaI

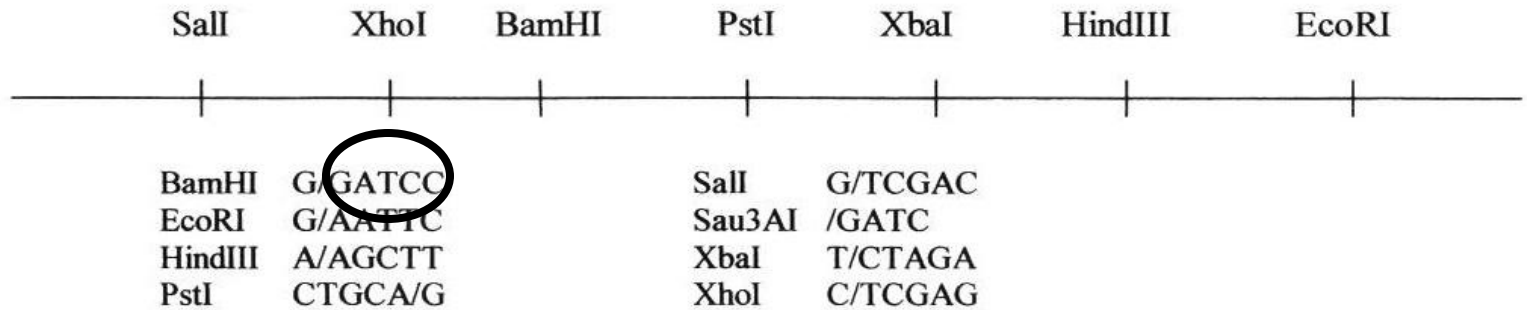
Relier avec la ligase: bords collants + probable

Exercice 2

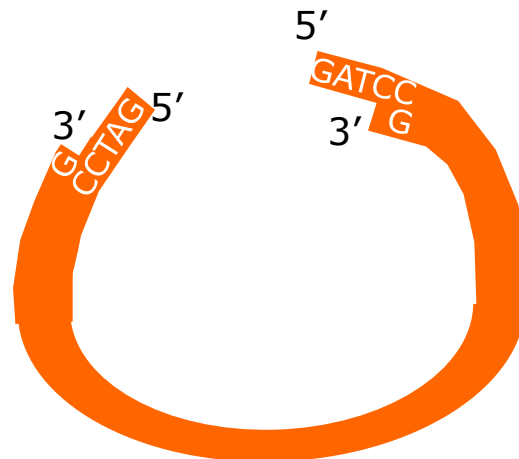
a- segment d'ADN digéré par Sau3AI



un vecteur



Vecteur digéré par BamHI



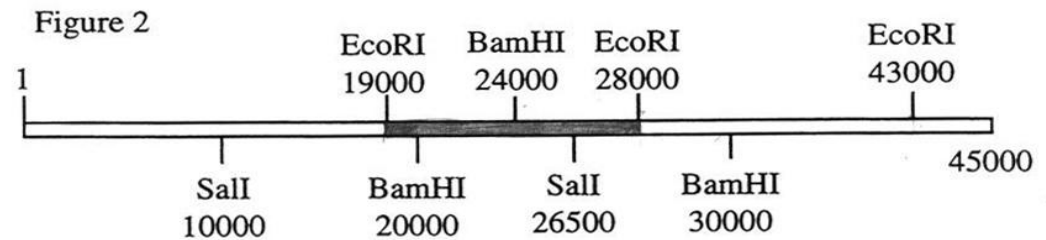
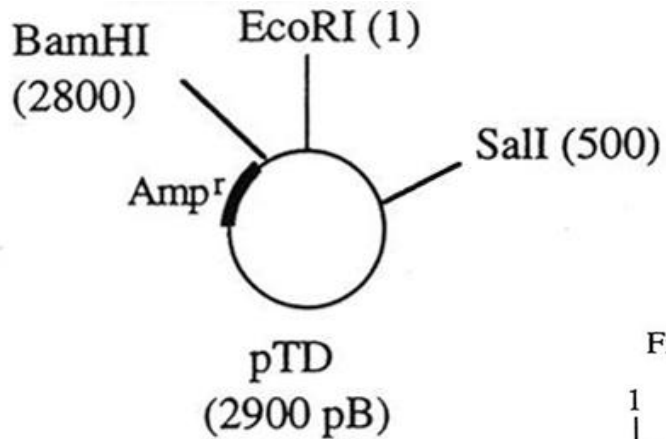
Ligase relie les 2 fragments

b- réexciter le fragment d'ADN cloné?

GGATC **GATCC**
CCTAG **CTAGG**

Plus de site BamHI \Rightarrow coupure avec Sau3AI

Exercice 3



1- étapes du clonage:

- Digérer le vecteur par EcoRI – action de la phosphatase pour éviter la ligation du vecteur sur lui même
- Digérer l'insert par EcoRI \Rightarrow 3 tailles différentes
- Electrophorèse pour reconnaître la bande de 9kb
Prélever avec un scalpel le gel contenant la bande
Extraire et purifier la bande de 9 kb
- Mettre le vecteur avec l'insert + ligase
- Transformer des bactéries
- Les faire pousser sur milieu + ampicilline pour sélectionner celles qui ont le vecteur

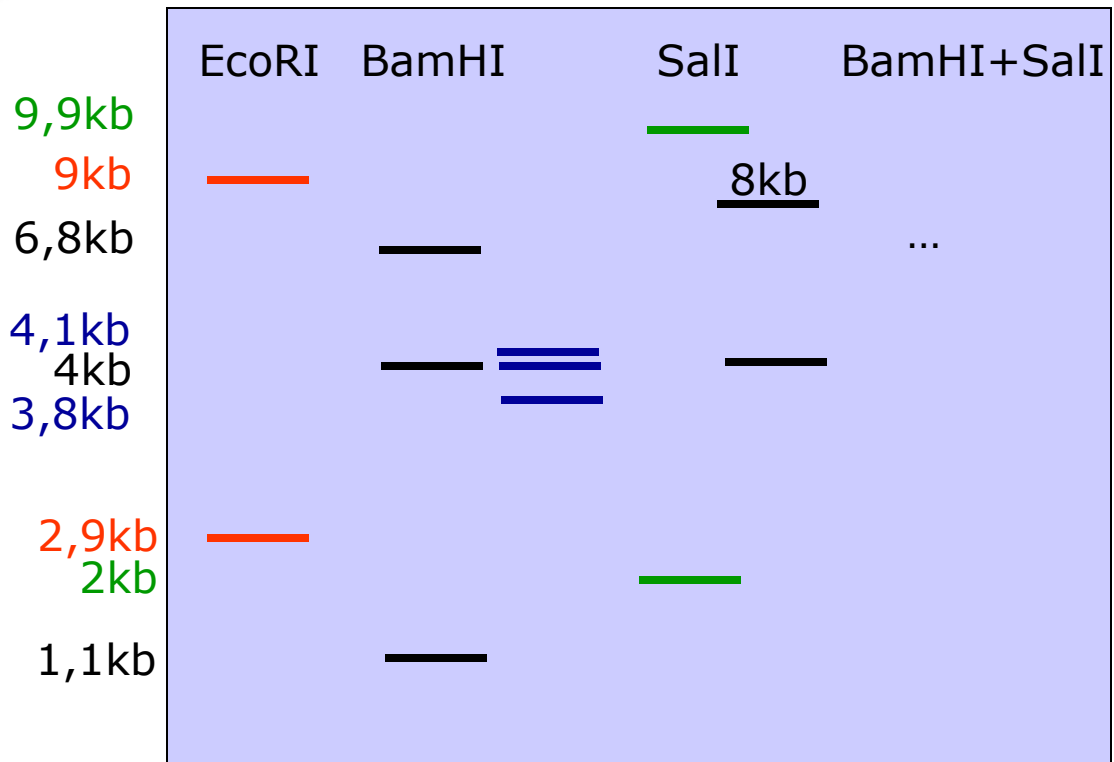
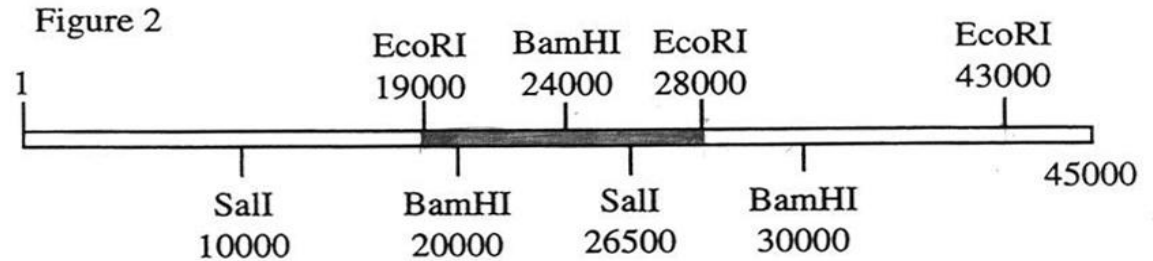
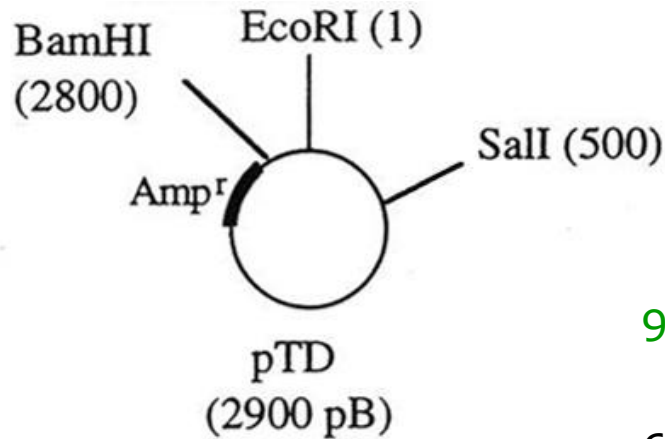
Pb: ce vecteur n'a pas de 2ième gène de criblage pour sélectionner l'insert (pas lacZ)?

On sera obligé d'analyser le construit vecteur + insert : les bactéries sont lysées puis l'ADN extrait:

on cherche un vecteur recombinant de $9\text{kb} + 2900\text{pb} = 11,9\text{kb}$

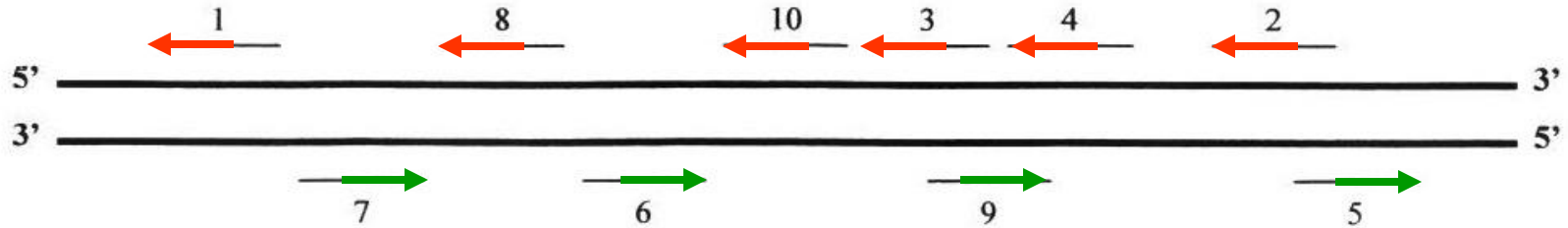
2- 2 plasmides recombinants différents: clonage non orienté: même site de coupure de chaque coté du vecteur et de l'insert.

3-



Exercice 4

Le schéma ci-dessous représente un fragment d'ADN sur lequel est représentée la position après hybridation de 10 amorces utilisables pour faire de la PCR.

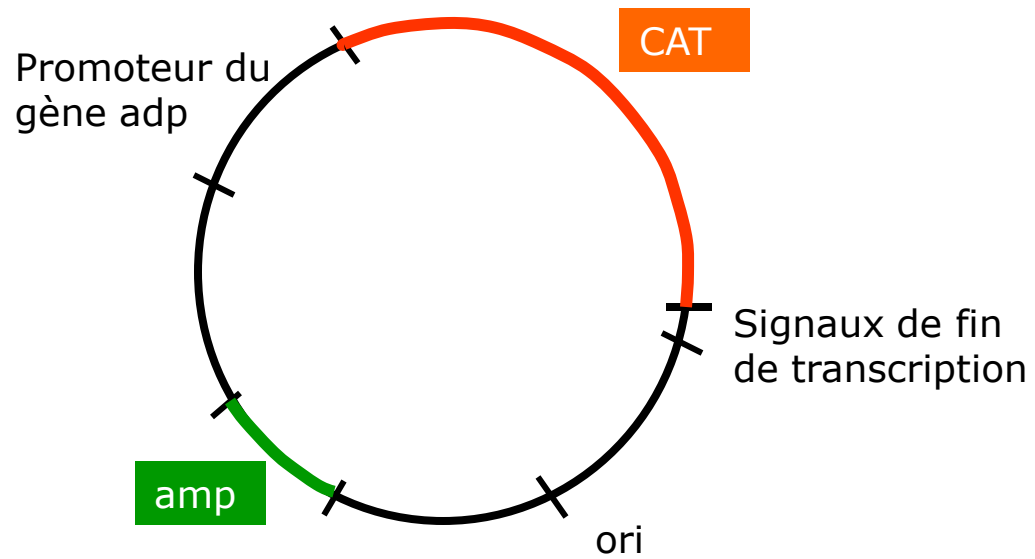





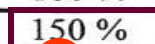









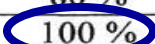



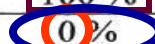

b) Compléter les cases non grisées du tableau ci-dessous en indiquant, pour chaque couple d'amorces, si la PCR peut réussir ou non.

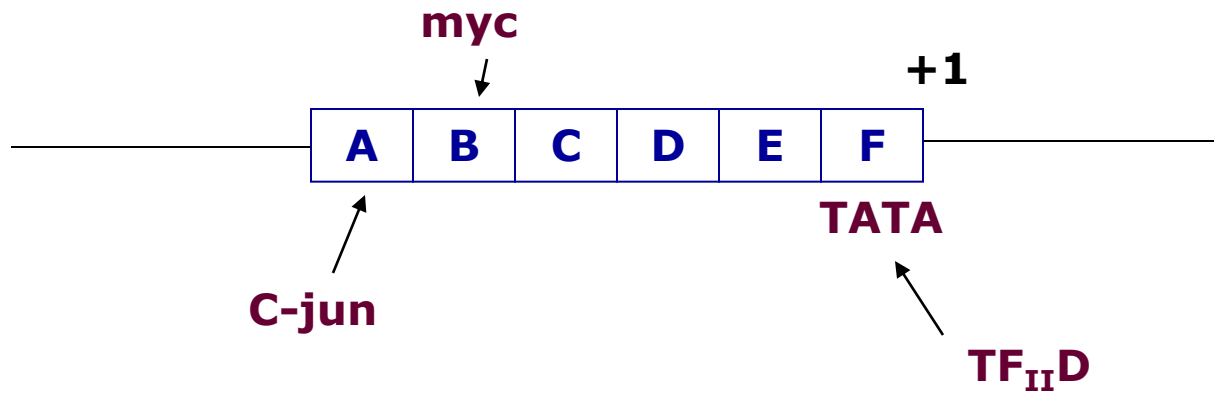
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Exercice 5

a) Le plasmide:



promoteur	c-jun	myc	fas	activité CAT
ABCDEF	-	-	-	100 %
ABCDE 	-	-	-	 0 %
ABCD F	-	-	-	100 %
ABC EF	-	-	-	100 %
AB DEF	-	-	-	100 %
A CDEF	-	-	-	100 %
BCDEF	-	-	-	100 %
ABCDEF	 +	-	-	 150 %
ABCDE 	+	-	-	 0 %
ABCD F	+	-	-	150 %
ABC EF	+	-	-	150 %
AB DEF	+	-	-	150 %
A CDEF	+	-	-	150 %
 BCDEF	+	-	-	 100 %
ABCDEF	-	 +	-	 80 %
ABCDE 	-	+	-	 0 %
ABCD F	-	+	-	80 %
ABC EF	-	+	-	80 %
AB DEF	-	+	-	80 %
 CDEF	-	+	-	 100 %
BCDEF	-	+	-	80 %
ABCDEF	-	-	 +	 100 %
ABCDE 	-	-	+	  0 %
ABCD F	-	-	+	100 %
ABC EF	-	-	+	100 %
AB DEF	-	-	+	100 %
A CDEF	-	-	+	100 %
BCDEF	-	-	+	100 %



seul : uniquement boîte TATA

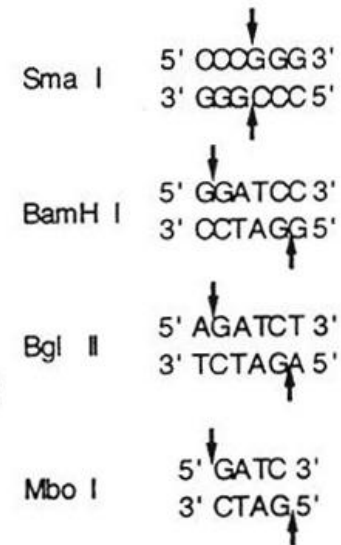
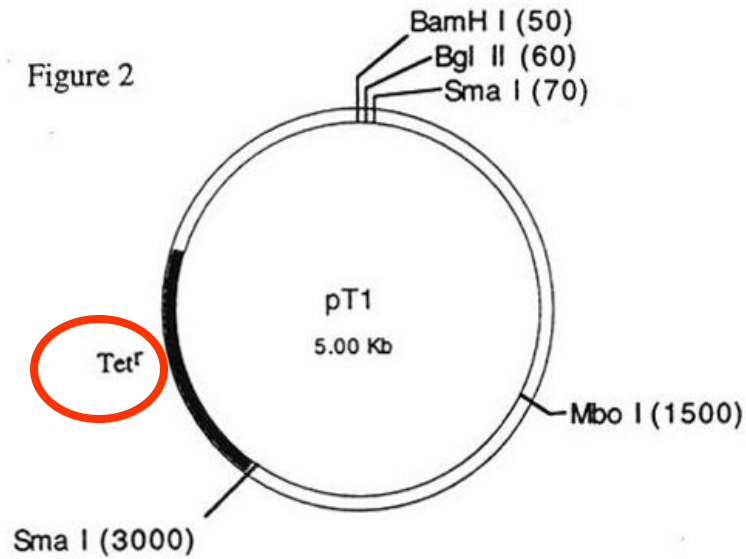
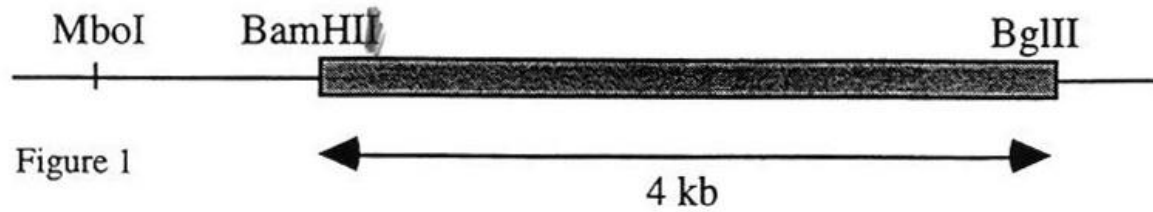
⇒ Niveau de base 100%



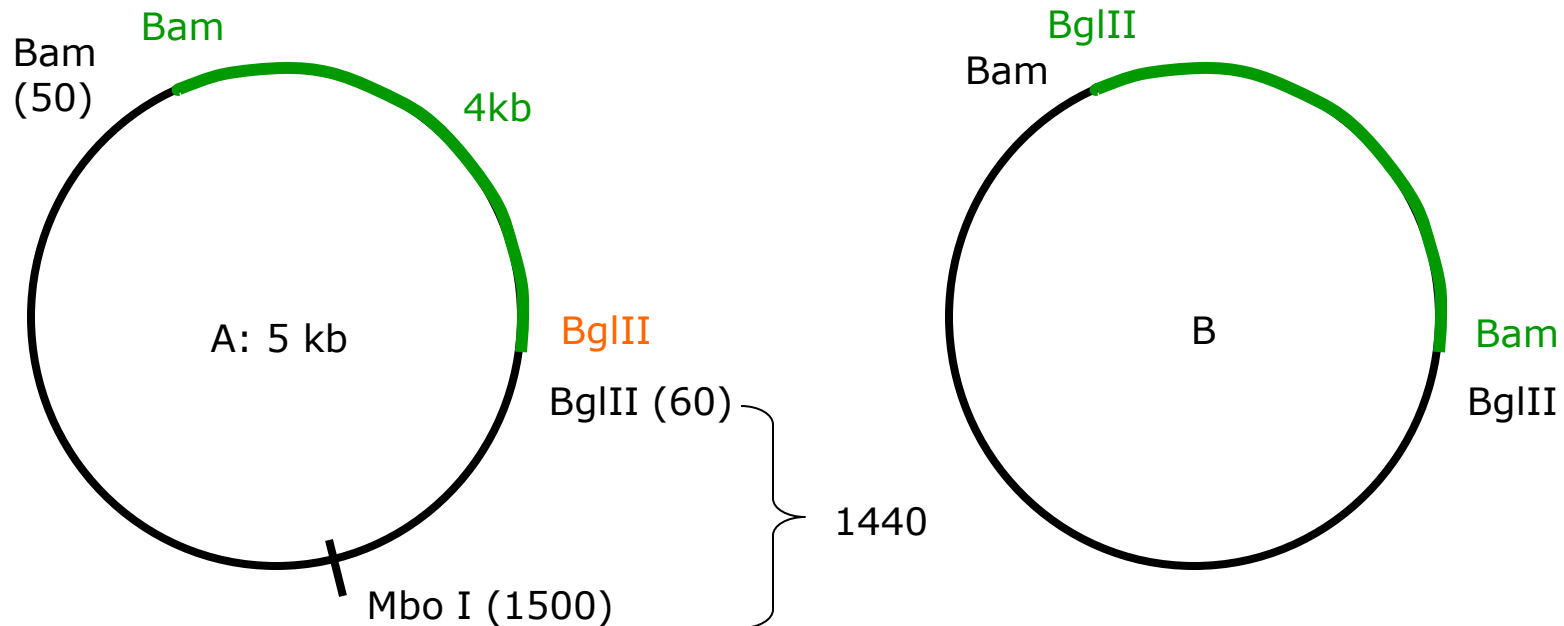
+ **C-jun** pas de site de fixation de c-jun

⇒ Niveau de base 100%

Exercise 6



	G	GATCC
Bam	CCTAG	G
	A	GATCT
BglII	T CTAG	A



A

GGATCC	Bam	A GATCT	BglII
CCTAGG	Bam	TCTAG A	

B

G GATCT	BglII	T GATCC	BglII
CCTAG A	Bam	ACTAG G	Bam

Mbo I

3 fragments de A et B:
4kb
1.44kb
3.55kb