Université Larbi Ben M’hidi – Oum El Bouaghi. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie. Département des S.N.V.

**Corrigé type : Genetic engineering Applied to microbial Biotechnology**

**.**

1. Exonucléases : libèrent par hydrolyse le nucléotide situé à l’extrémité 5’ ou 3’ ; Endonucléases: hydrolysent une liaison ester interne.
2. Endonucléases capables de couper l’ADN double brin à des sites spécifiques de 4 à 6 paires de bases (parfois plus) appelée site de restriction. Les séquences habituellement reconnues sont palindromiques.
3. La Taq polymérase, La Pfu et la Pwo DNA polymérase.
4. Plasmides, Bacteriophages, cosmides, Bacterial Artifecial Chromosomes (BACs ), Yeast Artifecial Chromosomes (YACs ).
5. plasmide pBR322, pUC19, le phage lamba et le phage M13……..
6. **Électroporation :** Cette technique implique l’exposition de l’hôte à des décharges électriques afin d’ouvrir les pores (temporairement) dans la membrane par lesquels, l’ADN cloné, ajouts dans le milieu, peut pénétrer sans lyse des cellules.
7. Les vecteurs utilisés portent des marqueurs de transformation, il s'agit souvent de gènes de résistance aux antibiotiques. Ainsi, si des bactéries transformées avec ce plasmide arrivent à cultiver sur un milieu contenant l'antibiotique, seules les bactéries ayant le gène de résistance à l'antibiotique vont pouvoir pousser sur le milieu. Pour analyser les bactéries avec un plasmide recombiné, on utilise une résistance à un second antibiotique . L’insertion du fragment d’ADN dans le plasmide doit inactiver le gène de résistance au deuxième antibiotique.
8. Sonde nucléotidique monocaténaire radioactive complémentaire de la séquence de l’ADN recherché (gène d’intérêt).
9. La terminaison commence dès que l'enzyme rencontre un signal de terminaison d'une séquence de 40 pb riches en GC suivie par autres riche en A (donc U sur l’ARN). Cette dernière est transcrite en ARN et forme une structure en tige boucle (épingle à cheveux) par appariement de bases du même brin, suivies d'une série d'uridines. Cette structure provoque un ralentissement, puis un arrêt et un décrochage de l’ARN polymérase. D'autres types de terminateurs nécessitent des facteurs protéiques spécifiques. Chez *E.* *coli* la protéine *Rho* (une hélicase ARN-ADN / ATP-dépendante sous forme d'homohexamère)
10. Un promoteur utilisable pour les productions à grande échelle doit posséder les qualités suivantes:

* Avoir un niveau de transcription maximal.
* Etre fortement régulé: la synthèse de l'ARNm doit être totalement inhibée en dehors des périodes d'induction.
* L'induction ne doit pas avoir d'effet sur la physiologie de la cellule.

**Dr Khennouchi N.C.H.**