

<b>L3 biochimie/Semestre 6/Génie génétique/SECTION 01</b>				
Matricule	Note	Groupe		
232334031606	16.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334045117	13.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334072404	13.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334009215	13.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334096812	13.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334091508	9.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334093504	10.5	SECTION 01/Groupe 01		
222234030502	13.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334093902	8.0	SECTION 01/Groupe 01		
222234006706		SECTION 01/Groupe 01		
232334005812	13.0	SECTION 01/Groupe 01		
222234005502	10.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334039904	13.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334058101	17.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334040409	13.5	SECTION 01/Groupe 01		
222234048116	14.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334057314	17.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334097813	9.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334032610	12.5	SECTION 01/Groupe 01		
222234007420	17.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334027414	14.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334032614	12.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334028107	13.5	SECTION 01/Groupe 01		
232334008708	17.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334017004	16.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334005218	11.0	SECTION 01/Groupe 01		
232334058118	11.0	SECTION 01/Groupe 02		
232334093206	16.0	SECTION 01/Groupe 02		
232334067909	11.5	SECTION 01/Groupe 02		














## Corrigé type de la matière « Génie génétique »

1- Expliquez l'originalité des enzymes de restriction et citez les deux types de coupures qu'elles peuvent réaliser sur l'ADN. **(2+2 points)**

- Les enzymes de restriction sont isolés à partir de bactéries, le plus souvent qui utilisent ces molécules pour se défendre contre une invasion d'ADN étrangers particulièrement d'origine virale.
- Deux types de coupure peuvent se produire : des coupures à extrémités franche et des coupures à extrémités cohésive.

2- Définissez les topoisomères de l'ADN et précisez le rôle des topoisoméras. **(2+2 points)**

Les topoisomères sont deux molécules d'ADN qui ont la même séquence et diffèrent uniquement par le nombre d'enlacements (superenroulement ou le nombre de tours que fait l'un des brins autour de l'autre brin).

Topoisoméras : sont des enzymes qui modifient le nombre d'enlacements.

- La topoisomérase 1 : coupure transitoire et ressoude d'un seul brin d'ADN. Ce sont les enzymes relâchant qui supprime les super-tours négatifs.
- La topoisomérase 2 : elle coupe d'une manière transitoire et ressoude les 2 brins d'ADN. Exemple de ces enzymes : la gyrase bactérienne qui introduit des super-tours négatifs dans une double hélice d'ADN.

3- Définissez le polylinker (site de clonage multiple) et précisez son rôle. Sur quels critères repose le choix d'un vecteur lors d'une opération de clonage ? **(2+2 points)**

*Polylinker* ou site de clonage multiple : une séquence présentant une série de sites de restriction uniques (les uns à la suite des autres) inséré dans le vecteur pour faciliter les clonages.

- La taille du fragmente, la nature de la cellule réceptrice.

4- Expliquez le principe de la RT-PCR (Reverse Transcriptase PCR) et décrivez les principales étapes de cette technique. **(2+2 points)**

Cette technique est utilisée pour la mise en évidence et la caractérisation d'ARN en très faible quantité, ou bien lorsque la source d'ARN est très limitée. La RT-PCR est une technique qui permet d'amplifier de manière élective (et sous forme d'un fragment ADNc double brin) une séquence d'ARN spécifique présente dans un mélange d'ARN-polyA, ou d'ARN totaux, issus d'un tissu supposé exprimer le gène d'intérêt. Cette réaction est catalysée par la transcriptase inverse des rétrovirus (reverse transcriptase) qui synthétise une chaîne d'ADN à partir d'une matrice d'ARN.

- Après extraction des ARN totaux, les ARNm sont isolés par chromatographie d'affinité grâce à des oligodT (oligonucléotide polyT), ils se caractérisent par une séquence polyA en 3'.
- Les ARNm sont soumis ensuite à la transcriptase inverse qui va générer une copie d'ADN (ADNc) de chaque ARNm.

- À l'issue de la transcription inverse, les ARNm sont hydrolysés (traitement alcalin, RNase ou température).
- Les étapes suivantes sont réalisées dans l'enceinte du thermocycleur. Les ADNc monocaténaire sont alors répliqués par l'ADN polymérase.

5- Expliquez le rôle des didésoxyribonucléotides (ddNTP) dans la technique de séquençage et citez les constituants du mélange réactionnel utilisé. **(2+2 points)**

Un didésoxynucléotide est un analogue structural du désoxynucléotide mais qui ne possède pas un groupement OH en 3', il peut être ajouté normalement à la chaîne au cours de la synthèse, mais l'extension est stoppée juste après son incorporation (les didésoxynucléotides sont des terminateurs de la réaction de polymérisation).

- Quatre mélanges sont préparés, chacun des mélanges contient:
  - ✓ Le fragment qui doit être séquencé
  - ✓ Un oligonucléotide synthétique (amorce) qui est hybridé à proximité de la séquence à déchiffrer.
  - ✓ 4 dNTP's (dCTP, dATP, dGTP, dTTP) dans un au moins est marqué en  $P^{32}$ .
  - ✓ L'ADN polymérase
  - ✓ un ddNTP.