

Nom :

Prénom :

Groupe :

Examen de remplacement en génie génétique**Partie 1 QCM (15 pts) :** Remplissez le tableau ci-dessous par la lettre correspondante à la bonne réponse.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

1) Les banques d'ADN

- A. L'enzyme de restriction et le vecteur choisis influencent légèrement sur la construction de la banque d'ADNg.
 B. Il est nécessaire de transformer l'ARN en ADNc bicaténaire adaptés à se cloner pour former une banque d'ADNc.
 C. Une banque d'ADNc est donc l'ensemble des colonies représentatives des populations d'ADN génomiques présents dans un organisme.
 C. Se fonde sur l'implication exclusive des enzymes de restriction et des fluorochromes.

2) Les enzymes du clivage

- A. La nucléase SI est une endonucléase à clivages non spécifiques qui dégrade seulement les acides monocaténaires en présence d'ions du Zinc.
 B. *Kpn* I et *Acc65* I sont des enzymes compatibles clivant l'ADN dans deux sites de restriction différents et donnant des extrémités franches.
 C. *Bam*HI et *Bgl* II sont des isoschisomérases reconnaissant la même séquence palindromique et générant des bouts compatibles cohésives.

3) la technique de séquençage

- A. Consiste à identifier uniquement la séquence d'un fragment d'ADNc.
 B. Selon la méthode de Sanger, trois types des nucléotides sont ajoutés à chaque tube réactionnel : dNTP, dNTP* (³²P NTP) et ddNTP.

4) Pour cribler les colonies transformées par le plasmide pUC19 recombinant

- A. L'insertion du fragment d'ADN dans ce vecteur aboutit à l'activation du gène qui code pour la β -galactosidase.
 B. En présence de l'inducteur (IPTG) et l'équivalent coloré du lactose (X-gal), on sélectionne les bactéries résistantes à l'ampicilline se présentent sous forme de colonies blanchâtres.
 C. En présence de l'inducteur (IPTG) et l'équivalent coloré du lactose (X-gal), on sélectionne les bactéries résistantes à l'ampicilline et se présentent sous forme de colonies bleues.

5) La technique d'immun-blot

- A. Fait cibler les transcrits, c'est pourquoi la membrane de polyacrylamide est la plus utilisée dans l'étape du transfert de gel.
 B. Fait intervenir des anticorps conjugués qui s'interagissent aux protéines de blocage telles que la BSA.
 C. Fait intervenir des anticorps primaires hautement spécifiques (anti-protéines recherché).

6) La mutagenèse

- A. Elle est procédée pour but d'améliorer effectivement le génome de l'espèce receveuse.
 B. Elle peut être réalisée par l'introduction des amorces mutées au PCR ou par cassette.
 C. Le type, la fréquence et les sites des mutations induites sont bien déterminer lorsqu'on modifie les conditions du milieu réactionnel.

7) La transformation des cellules hôtes par le plasmide pUC19 recombinant

- A. Aboutit à l'activation de l'expression du gène qui code pour la β -galactosidase.
 B. Aboutit à l'inactivation du gène qui code pour la β -galactosidase qui clive par conséquent le X-gal.
 C. La couleur de colonies demeure blanchâtre quand le X-gal n'est pas clivé par la β -galactosidase.

8) Les sondes

- A. Sont des séquences d'oligonucléotides synthétiques et rarement marquées de type ADN, ARN ou ADNc.
 B. Elles doivent être complémentaires et antiparallèles à la une séquence d'acide nucléique à visualiser ou à séquencer.
 C. Le marquage froid par translation de coupure, en utilisant la DNase I, est le seul type qui peut assurer l'hybridation spécifique de la sonde à la séquence cherchée.

9) La PCR

- A. Est une technique d'amplification *in vivo* en utilisant un thermocycleur et une enzyme ADN poly Taq.
 B. La Th est calculée en fonction de la composition de l'amorce en nucléotides pour assurer une bonne hybridation.
 C. Les phases de dénaturation et d'extension a besoin une T° très élevée et changeable.

10) le choix de vecteur

- A. Il contient strictement une seule origine rep qui favorise sa répllication d'une manière dépendante du génome de la cellule hôte.
- B. Le plasmide pBR322 et le phagémide pBluescript sont homologues et ont la capacité de recevoir un fragment insert de taille 300kb.
- C. Il contient au moins un gène de sélection de type bla (Ap^R) ou tet (tc^R) en présence de l'opéron *LacZ* contenant le site polylinker.

11) La RT-PCR

- A. Les ARNm polyadénylés purifiés doivent se transcrire inversement en ADNc sous l'effet de terminal transférase (TTR).
- B. Elimination spécifique des ARNm s'effectue grâce à l'ARNase H ou la soude.
- C. La synthèse de deuxième brin d'ADN s'achève par ADN polymérase en présence des amorces néosynthétisées.
- D. La ligature des adaptateurs (linkers) aux extrémités se réalise à l'aide de la PCR en absence d'une ligase.

12) Les enzymes modifiant l'ADN

- A. Parmi lesquelles les polynucléotide kinases qui catalysent la réaction l'ajout d'un groupement phosphate en 3'
- B. La phosphatase alcaline fait cibler l'extrémité 3' en ajoutant un groupement phosphate
- C. DNase exonucléase III fait partie de ce type d'enzyme et elle peut éliminer des nucléotides un à un à partir de 3' libre (3'→5' exonucléase).

13) la méthode d'empreinte à la DNase I

- A. Est l'une des techniques d'analyse qui soit pour mettre en évidence l'interaction entre une séquence d'un gène et une protéine régulatrice.
- B. Footprinting se réalise avant la technique de gel-retard.
- C. Elle permet de définir précisément les nucléotides du promoteur qui interagissent avec le F. transcription cible.
- D. La présence d'un complexe protéique démasque le site éventuel de coupure par la DNase I et favorise l'action de cette enzyme.

14) Hybridation moléculaire

- A. la stringence est le degré d'empêchement des hybridations spécifiques incluant l'ensemble des conditions Physico-chimique (la T°, le pH et la force ionique).
- B. Une solution est plus stringente, qu'elle stabilise l'ADN.
- C. Dans des conditions de forte stringence, n'hybrident que des fragments de DNA hautement complémentaires.
- D. stringence élevée quand [NaCl] ↘ et température ↗ ↔ stabilisation de la double brin ↔ hybridation non spécifique.

15) Marquage des acides nucléiques

- A. C'est l'introduction d'un seul atome marqué à l'intérieur ou aux extrémités d'ADN.
- B. La polyN^{tidé} kinase T4 catalyse le transfert du phosphate radioactif du γ -³²P ATP sur l'extrémité 5'-P d'ARN.
- C. La transférase terminale ajoute un didésoxynucléotide marqué en 3'-OH d'un fragment d'ADN.
- D. Les marquages à la biotine et à la digoxigénine sont deux types de marquage chaud indirect les le plus fréquents.

Partie 2 (5pts) : Méthodes de modification du matériel génétique. Citer les étapes de la mutagénèse en précisant les types et les manières de création d'une ou des mutations

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....