

Série N° 02

Exercice N°1 : Compléter le tableau suivant :

vecteur	taille (pb)	nombre de copies par cellule	gènes de sélection
pBR322			
pUC18			

Exercice N°2 : répondez aux questions suivantes :

1. à quoi sert l'insertion de tout ou partie du gène LacZ codant la β -galactosidase dans un vecteur de clonage ?
2. quelles sont les trois séquences que doit contenir obligatoirement un plasmide ?
3. quelles sont les modifications nécessaires pour qu'un phage lambda puisse être utilisé comme vecteur ?

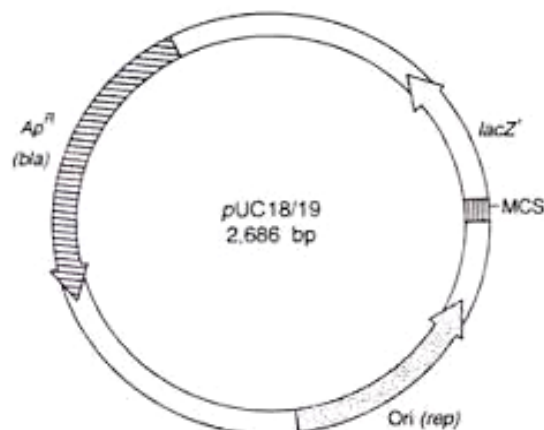
Exercice N°3

On souhaite cloner un gène X provenant d'un champignon dans la bactérie *E. Coli*. Pour cela, on utilise le plasmide pBR322 comme un vecteur. Proposez un protocole de ce clonage.

Exercice N°4

-Afin de cloner un segment d'ADN circulaire double brin dans le plasmide Puc18, on réalise les opérations suivantes :

- Traitement de l'ADN à cloner par l'enzyme de restriction EcoRI ;
- Traitement de plasmide Puc18 (voir la figure ci-dessous) avec la même enzyme ;
- Incubation de l'ADN à cloner et le plasmide traité par EcoRI en présence de ligase T4 et l'ATP.



- On répète la même expérience avec les enzymes de restriction suivantes : BamHI et XbaI.
- Les plasmides recombinants sont incubés en présence d'une souche d'E.coli Amp^S, LacZ⁻
- Les bactéries sont ensuite cultivées sur une gélose contenant de l'ampicilline et du X-Gal. Tous les types de colonies cultivant sur ce milieu sont isolés et leur ADN plasmidique est extrait. L'électrophorèse sur gel d'agarose permet de déterminer la taille de chaque plasmide.
- Les résultats de ces expériences sont consignés dans le tableau suivant :

Enzyme utilisée	Type de colonies	Taille de l'ADN plasmidique en Kpb	Taille de l'insert en Kpb
EcoRI	A : bleue	2.69	
	B : blanche	3.00	
	C : blanche	3.28	
XbaI	A : bleue	2.69	
BamHI	A : bleue	2.69	
	B : blanche	2.92	
	C : blanche	2.81	
	D : blanche	3.29	
Aucune	A : bleue	2.69	

1. Quel est le rôle de l'ampicilline au cours de ces expériences ?
2. A quoi correspondent une colonie bleue et une colonie blanche ?
3. Déterminer la taille de l'ADN inséré dans chaque cas.
4. Quel est la taille du fragment d'ADN concerné ?
5. Comment interpréter le résultat obtenu avec l'enzyme XbaI ?