

## Série N°2

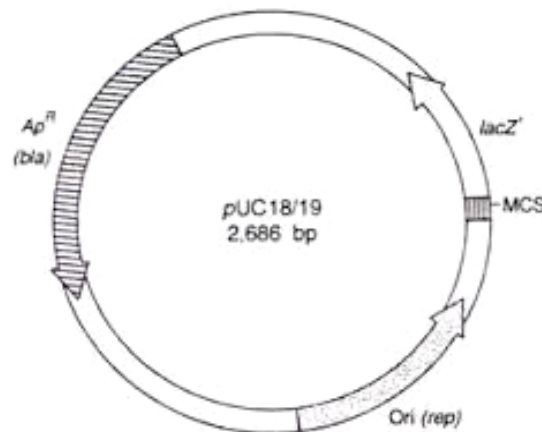
### Exercice N°1 : répondez aux questions suivantes :

1. à quoi sert l'insertion de tout ou partie du gène LacZ codant la  $\beta$ -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°2

-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<sup>S</sup>, LacZ<sup>-</sup>

-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
<b>EcoRI</b>	A : bleue	2.69	
	B : blanche	3.00	
	C : blanche	3.28	
<b>XbaI</b>	A : bleue	2.69	
<b>BamHI</b>	A : bleue	2.69	
	B : blanche	2.92	
	C : blanche	2.81	
	D : blanche	3.29	
<b>Aucune</b>	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 ?