



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE MOLECULAIRE ET GENIE GENETIQUE

SESSION 2011

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h
COEFFICIENT : 1

CORRIGÉ

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 6 pages numérotées de 1/6 à 6/6.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie moléculaire et génie génétique	Code sujet : BOE2BMO bis	Page : 1/6

Les vecteurs plasmidiques

Questions	Corrigé	Barème sur 40
1.		21
1.1		13
1.1.1	<p>Le brin codant est celui qui n'est pas transcrit, il correspond à la séquence de l'ARNm (sauf remplacement de T par U). (1 pt)</p> <p>Le brin transcrit est celui qui subit la transcription, il correspond à la séquence inverse complémentaire de l'ARNm. (1 pt)</p> <p>Le terme « complément » indique que le brin codant du gène <i>bla</i> est le brin complément inverse de celui dont la séquence est fournie. (0,5 pt)</p> <p>La séquence GenBank correspond donc pour ce gène au brin transcrit. (0,5pt)</p>	3
1.1.2	<p>Promoteur = séquence située à proximité en amont d'un gène, nécessaire à l'initiation au site + 1 et à l'orientation de la transcription par le recrutement des sous-unités de l'ARN polymérase. (1 pt)</p> <p>Promoteur fort = séquence promotrice capable d'initier la transcription à grande fréquence. (0,5 pt)</p> <p>Promoteur constitutif = dont l'activité n'est pas régulée, la transcription est donc continue. (0,5 pt)</p>	2
1.1.3	<p>Schéma présentant à l'échelle (avec indications des graduations principales) (0,5)</p> <ul style="list-style-type: none"> - le promoteur P2, le gène <i>tet</i>, en orientation directe (0,5 pt) - les 3 sites de restriction dans <i>tet</i> (1 pt) - l'origine de réplication (0,5 pt) - le gène <i>bla</i>, et le promoteur P1 (1 pt) 	3,5
1.1.4	<p>R = G ou A car noyau purique (puRique)</p> <p>Y = C ou T car noyau pyrimidique (pYrimidique)</p> <p>W = A ou T : bases capables de former 2 liaisons hydrogène entre elles (<i>Weak</i>)</p> <p>S = C ou G bases capables de former 3 liaisons hydrogène (<i>Strong</i>)</p>	1
1.1.5	<p>Format FASTA : texte brut organisé en paragraphes</p> <ul style="list-style-type: none"> • premier paragraphe commençant par « > » = titre, identification de la séquence, • paragraphe(s) suivant(s) = la séquence sans espaces. 	1
1.1.6	<p>Séquence palindromique: les séquences de chaque brin lues dans le sens 5'-3' sont identiques :</p> <p style="text-align: center;">5' -G♦T C G A C- 3'</p> <p style="text-align: center;">3' -C A G C T♦G- 5'</p>	1
1.1.7	<p>L'hydrolyse par <i>Sal</i> I est impossible lorsque la cytosine C* du site est méthylée.</p>	0,5
1.1.8	<p>5' -GGATGT- 3' ou 5' -AGATGC- 3'</p> <p>3' -CCTAGA- 5' 3' -TCTAGG- 5'</p>	1

1.2		8
1.2.1	<p>La double digestion par <i>Bam</i>H I et <i>Sal</i> I</p> <p>Permet un seul sens d'intégration de l'insert dans le vecteur et</p> <p>Génère des extrémités non compatibles ce qui permet d'éviter la recircularisation du vecteur sur lui-même (si élimination du petit fragment entre <i>Bam</i> HI et <i>Sal</i> I)</p>	2
1.2.2	<p>Double digestion <i>Bam</i> H I + <i>Sal</i> I</p> <p>Choix = tampon D (0,5 pt) (seul tampon dans lequel <i>Sal</i> I a une activité >50 %), dans lequel l'activité de <i>Bam</i> H I est comprise entre 50 et 75 % de son activité maximale. (0,5 pt)</p> <p>Conditions opératoires : (1 pt)</p> <ul style="list-style-type: none"> - augmenter la quantité d'enzyme <i>Bam</i> H I - ou/et la durée d'hydrolyse. 	2
1.2.3	<p>Amorces « universelles » situées de part et d'autre de <i>Bam</i> HI (distance a) et <i>Sal</i> I (distance b)</p> <ul style="list-style-type: none"> • présence d'une bande de petite taille ($\approx a+b+276(651-375)$) \Rightarrow absence d'insert • présence d'une bande plus longue ($a+b+taille\ insert$) \Rightarrow présence de l'insert <p>OU</p> <p>Amorces spécifiques situées de part et d'autre du gène <i>tet</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • présence d'une bande de taille attendue ($\approx 1,2kb$) \Rightarrow absence d'insert • présence d'une bande plus longue ou absence de bande (si insert trop long) \Rightarrow présence de l'insert <p>OU</p> <p>Une amorce spécifique à l'extérieur de <i>tet</i> et une amorce spécifique à l'intérieur de l'insert (si séquence connue)</p> <ul style="list-style-type: none"> • présence d'une bande de taille attendue \Rightarrow présence de l'insert • absence de bande \Rightarrow absence de l'insert <p>OU</p> <p>Deux amorces spécifiques à l'intérieur de l'insert (si séquence connue)</p> <ul style="list-style-type: none"> • présence d'une bande de taille attendue \Rightarrow présence de l'insert • absence de bande \Rightarrow absence de l'insert <p>1 pt localisation amorces, 1 pt exploitation du gel</p>	2
1.2.4	<p>Homogénéisation douce \Rightarrow risque de couper l'ADN génomique et de contaminer l'ADN plasmidique (1 pt)</p> <p>Temps de lyse limité (5 minutes) \Rightarrow risque de dénaturation permanente de l'ADN plasmidique, ce qui le rend inutilisable pour une application ultérieure (perte de la forme superenroulée). (1 pt)</p>	2

2.		7
2.1	<p>- <i>LacZ</i>α, marqueur de recombinaison, inactivé par insertion permet le repérage direct des clones recombinants par \square-complémentation ou sélection blanc bleu :</p> <p>Si gène intact \Rightarrow β-galactosidase fonctionnelle (colonies bleues) Si <i>lacZ</i>α interrompu, pas de β-gal fonctionnelle (colonies blanches) (1,5 pt)</p> <p>- MCS = Multi Cloning Site = site de clonage multiple, qui comprend de nombreux sites de restriction uniques. Intérêt = choix dans les enzymes de restriction pour un clonage donné. (1 pt)</p>	2,5
2.2	Séquence promotrice minimale (0,5pt) + opérateur (0,5pt)	1
2.3	<p>Vecteur navette car</p> <ul style="list-style-type: none"> - amplification possible chez un procaryote (pUC ori et KanR) (0,5 pt) - amplification possible chez un eucaryote (SV40 ori et NeoR) (0,5 pt) et expression (P_{CMV}, SV40 polyA, P_{SV40}, HSV TK polyA) (0,5 pt) 	1,5
2.5	<p>L'étiquette est ici l'EGFP en Nter (0,5 pt). Intérêt (0,5 pt) : <u>localisation</u> cellulaire (la protéine fusion sera fluorescente) OU <u>vérification/quantification de l'expression</u> OU <u>purification</u> ultérieure par chromatographie d'affinité (anticorps anti-GFP)</p>	1
2.4	<p>P_{CMV} = promoteur d'origine virale (CMV) permettant l'initiation de la transcription du gène fusion EGFP-X dans des cellules eucaryotes. (0,5 pt) $SV40_{polyA}$ = signal de terminaison et de polyadénylation nécessaire à la maturation des ARNm de fusion chez les eucaryotes. (0,5 pt)</p>	1
3.		10
3.1		3
3.1.1	<p>La primase est une ARN polymérase \Rightarrow synthèse d'une amorce ARN. (1 pt) L'ADN polymérase de type III ne peut synthétiser un nouveau brin d'ADN qu'à partir d'une matrice double brin présentant une extrémité 3'OH libre (0,5 pt).</p>	1,5
3.1.2	<p>Activité exonucléasique 3'\rightarrow5' = Activité d'édition ou de relecture \Rightarrow excision des bases mal appariées ajoutées au cours de la réplication. (1 pt) Intérêt : limiter les erreurs d'incorporation au cours de la réplication. (0,5 pt)</p>	1,5

3.2		7
3.2.1	<p>Analyse :</p> <ul style="list-style-type: none"> - au temps 0, une seule bande correspondant à l'ARN I (0,5 pt) - après contact, <u>apparition d'une seconde bande</u>, migrant <u>moins loin</u> que celle de l'ARN I, avec <u>diminution simultanée de l'intensité</u> de la bande correspondant à l'ARN I (1,5 pt) - interprétation : appariement entre ARN I et ARNm <i>rep</i>, visualisé par la bande d'intensité croissante (0,5 pt) <p>Conclusion : l'ARN I et l'ARN <i>rep</i> s'hybrident pour former un complexe. (0,5 pt)</p>	3
3.2.2	<p>ARN antisens = ARN dont la séquence est <u>l'inverse complémentaire de l'ARNm</u></p> <p>Extinction de l'expression : par hybridation avec l'ARN messager et inhibition de la traduction de cet ARN messager.</p>	1,5
3.2.3	<p>On peut supposer que l'hybridation de l'ARN I avec l'ARNm <i>rep</i> provoque une inhibition de la traduction de la protéine REP. Or une diminution de la quantité de cette protéine diminue la fréquence d'initiation de la réplication. Ainsi, l'ARN I, en régulant l'expression du gène <i>rep</i> au niveau post-transcriptionnel, permet de contrôler le nombre de copies de plasmides présent dans la cellule.</p> <p>[Le taux intracellulaire d'ARN I augmente avec le nombre de copies du plasmide.]</p>	2,5

« Clarté et rigueur de l'expression écrite et de la composition » : **2 points sur 40** à attribuer en concertation avec l'équipe des correcteurs si la correction des questions est partagée.

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire) : 1 point	
1 point	0 point
Peu de fautes (maxi 3 à 5 par page), les termes scientifiques usuels sont correctement orthographiés.	Très nombreuses fautes d'orthographe et/ou de grammaire (au moins 10 par page), des erreurs pour l'orthographe des termes scientifiques usuels.
Vocabulaire adapté, pas de contre-sens.	Vocabulaire inadapté, contre-sens.
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture : 1 point	
1 point	0 point
Copie présentée de façon soignée, facilitant le travail de lecture du correcteur (texte et schémas).	Copie « bâclée », lecture fastidieuse liée à un manque de soin apporté au traitement des questions (textes et schémas).
Lecture fluide, texte facilement compréhensible.	Formulations non claires nécessitant une relecture.
Expression : À observer surtout dans les questions 1.2.3, 2.1, 3.2.1 et 3.2.3 : 2 points	

Références :

Sugiyama T., Itoh T., (1993) Nucleic Acids Research. **21**, 5972-5977.

Control of ColE2 DNA replication: *in vitro* binding of the antisense RNA to the *rep* mRNA.

Del Solar G., Giraldo R., Ruiz-Echevarria M.J., Espinosa M., Diaz-Orejas R. (1998) Microbiology And Molecular Biology Reviews **62**, 434-464.

Replication and Control of Circular Bacterial Plasmids

Actis L.A., Tolmasky M.E., Crosa J.H. (1999) Frontiers in Bioscience **4**, d43-62

Bacterial plasmids: replication of extrachromosomal genetic elements encoding Resistance to antimicrobial compounds.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé