



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV](#)®

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

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 MOLÉCULAIRE ET
GÉNIE GÉNÉTIQUE

Durée de l'épreuve : 2 heures
Coefficient : 1

CORRIGÉ ET BARÈME

Les méganucléases

Questions	CORRIGÉ	Barème sur 40 à ramener sur 20														
1.		16 points														
1.1	<p>ORF : open reading frame = cadre ouvert de lecture commençant par un codon ATG et finissant par un codon stop = gène potentiel,</p> <p>Intron : portion non codante d'une gène séparant les exons codant et épissés lors de la maturation des ARNm,</p> <p>ARNr : ARN ribosomal impliqué dans la traduction des ARNm en protéines constitutif des sous unités ribosomales.</p>	3 pts														
1.2	<p>Clarté du schéma notée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - la séquence codante (exons et introns), - signaux nécessaires à la transcription : promoteur, contenant le site de fixation de l'ARN polymérase (début de la transcription) et un élément de cis régulation où se fixera une protéine trans-activatrice ou trans-inhibitrice, signal de terminaison. - signaux nécessaires à la maturation des ARNm : capping, épissage, polyadénylation. - signaux nécessaires à la traduction : RBS, AUG et codon stop 	3 pts														
1.3.1	<p>Longueur, séquence, coupure correctes</p>	1 pt														
1.3.2	Unité : quantité d'enzyme nécessaire à la digestion d'un microgramme d'ADN contenant au moins une séquence cible en une heure à 37°C dans le tampon optimal de l'enzyme.	1 pt														
1.3.3	L'enzyme I-Cre I est à coupure rare. pGPS2 est fourni avec I-Cre I car il contient (au moins) un site de restriction très long (introuvable dans le commerce) pour cette enzyme, et il est donc utilisé dans la définition de l'unité de cette enzyme.	1 pt														
1.3.4	100 µg/mL x 100X = 10 mg/mL	1 pt														
1.3.5	<table border="0"> <tr> <td>1 µg of pGPS2 Not I-linearized</td> <td>10 µL</td> </tr> <tr> <td>BSA 100X</td> <td>0,5 µL</td> </tr> <tr> <td>Buffer (2, 3 ou 4) 10X</td> <td>5 µL</td> </tr> <tr> <td>AsiS I 1 U pour 100 %</td> <td>1 µL</td> </tr> <tr> <td>I-Cre I 2U pour avoir 100 %</td> <td>2 µL</td> </tr> <tr> <td>Eau BM pure</td> <td>31,5 µL</td> </tr> <tr> <td>Ordre : eau puis tampon puis ...</td> <td>Incubation 37°C 1 heure</td> </tr> </table>	1 µg of pGPS2 Not I-linearized	10 µL	BSA 100X	0,5 µL	Buffer (2, 3 ou 4) 10X	5 µL	AsiS I 1 U pour 100 %	1 µL	I-Cre I 2U pour avoir 100 %	2 µL	Eau BM pure	31,5 µL	Ordre : eau puis tampon puis ...	Incubation 37°C 1 heure	3 pts
1 µg of pGPS2 Not I-linearized	10 µL															
BSA 100X	0,5 µL															
Buffer (2, 3 ou 4) 10X	5 µL															
AsiS I 1 U pour 100 %	1 µL															
I-Cre I 2U pour avoir 100 %	2 µL															
Eau BM pure	31,5 µL															
Ordre : eau puis tampon puis ...	Incubation 37°C 1 heure															
1.4	<p>Cathode, Anode</p> <p>Trois pistes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - AsiS I seule : trois bandes de 1600 1112 1000 pb ; - I-Cre I seule : deux bandes de 3000 et 712 pb ; - AsiS I + I-Cre I : quatre bandes de 1600, 1000, 712, 400 pb. <p>Nombre, taille et position des bandes notés.</p>	3 pts														
Total partie 1		16 points														

		10 points
2.		
2.1.1	5' tcg gga cgt cgt acg acg tcc cga 3' NH ₂ S G R R T T S R COOH	1,5 pt
2.1.2	Numéro d'accèsion dans les bases de donnée, permet un accès rapide et précis aux séquences dans les banques génomiques et protéomiques.	1 pt
2.1.3	- Non sens par transformation de UUA en codon stop UAA ou UGA - Faux sens : transforme UUA en un codon pour un autre aa : UUU nombreuses possibilités - Silencieuse : codon différent mais aa identique UUA -> UUG leu	3 pts
2.2.1	Sur le schéma doivent apparaître : - deux séquences d'ADN identiques ou proches - une jonction covalente entre ces deux séquences - coupure des deux régions homologues - échange des brins entre les deux régions associées - ligature des brins recombinés	2 pts
2.2.2	En hydrolysant l'ADN au site cs, I-Cre I crée un ADN linéaire. Les deux régions homologues des fragments de gène de la β -galactosidase (actos) s'alignent et le système de recombinaison homologue de la levure échange les deux séquences, ce qui conduit à la création d'un nouveau vecteur circulaire contenant le gène ayant retrouvé son intégrité. Donc la coupure du vecteur par I-Cre I permet d'obtenir une β -galactosidase active.	2 pts
2.2.3	Les colonies positives sont colorées en bleu par transformation du X-Gal en produit bleu par la β -galactosidase.	0,5 pt
Total partie 2		10 points

		12 points
3.		
3.1	C'est une technique d'amplification par polymérisation en chaîne d'une séquence d'ADN double brin, utilisant une ADN polymérase thermostable et un couple d'amorces spécifiques des régions encadrant la séquence d'ADN cible à amplifier. Pour cela une succession de cycles constitués de trois étapes s'enchaînent.	1 pt
3.2	Taq pol ou ADN pol thermostable dNTPs Mg ²⁺ ADN matrice (gène I-Cre I modifié) Couple d'amorces spécifiques de l'ADN cible (amorces sens et antisens)	1 pt
3.3	3 étapes : - 90-95°C : dénaturation : rupture des liaisons hydrogènes dans la matrice. - Tm amorces – (5 à 10 °C) : hybridation : La température favorise la formation de double brin. - 70-72°C : élongation : température optimale de l'ADN polymérase thermostable utilisée.	1,5 pt
3.4	Incompatibles : Deux enzymes de restriction générant des extrémités cohésives ne pouvant s'associer ensemble. L'insert ne peut se positionner que dans un seul sens dans le vecteur, c'est un clonage directionnel.	1,5 pt
3.5	La phosphatase alcaline permet d'hydrolyser les phosphates en 5' des extrémités du vecteur ouvert pour éviter que la ligature ne puisse le refermer	1 pt

BOE2BMO bis

	sur lui-même, et cela dans le cas où les deux extrémités seraient compatibles. Dans notre cas cela n'arrivera pas car les extrémités du vecteur sont générées par deux enzymes de restriction incompatibles.													
3.6	<p>La phase de lecture lors de la traduction n'est conservée qu'avec ce vecteur :</p> <p>pGEX-4T-1</p> <p>Thrombin Début de la portion codante</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Leu Val Pro Arg</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Gly Ser</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Pro Glu Phe</td> <td style="padding: 2px;">atg aat aca aaa tat aat aaa gag</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">CTG GTT CCG CGT</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">GGA TCC</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">CCG GAA TTC</td> <td style="padding: 2px;">M N T K Y N K E</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="text-align: center; padding: 2px;">BamHI</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">EcoRI</td> <td></td> </tr> </table>	Leu Val Pro Arg	Gly Ser	Pro Glu Phe	atg aat aca aaa tat aat aaa gag	CTG GTT CCG CGT	GGA TCC	CCG GAA TTC	M N T K Y N K E	BamHI		EcoRI		2 pts
Leu Val Pro Arg	Gly Ser	Pro Glu Phe	atg aat aca aaa tat aat aaa gag											
CTG GTT CCG CGT	GGA TCC	CCG GAA TTC	M N T K Y N K E											
BamHI		EcoRI												
3.7	<ul style="list-style-type: none"> - Amp^r : Marqueur de sélection qui confère la résistance à l'ampicilline, permettant de sélectionner les cellules efficacement transfectées par le pGEX. - LacI^q : gène codant pour le répresseur très actif de l'opéron lactose, il se fixe sur la partie Plac du promoteur Ptac et inhibe la transcription. - GST sert d'étiquette, c'est une protéine qui se lie spécifiquement au glutathion, ce qui permet de purifier la protéine fusion GST-I-Cre I par chromatographie d'affinité. 	3 pts												
3.8	L'IPTG est un inducteur gratuit qui neutralise LacI, d'où activation de la transcription du gène codant la protéine de fusion GST-I-Cre I.	1 pt												
Total partie 3		12 points												

« 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.