

**QCM 40 : BCD**

A) Faux : la digestion par *EcoRI* génère deux coupures aux positions 1700 et 400

Plasmide sans insert :  $1700 - 500 = 1200$  pb

$$2500 - 1200 = 1300 \text{ pb}$$

Plasmide avec insert non muté :  $2500 - 1200 = 1300$  pb

$$1700 - 500 + 400 = 1600 \text{ pb}$$

Plasmide avec insert muté : on aura exactement les mêmes bouts générés que dans le cas où l'insert n'est pas muté car la mutation génère un site de restriction pour l'enzyme *Pvu II*, or là on n'utilise que l'enzyme *EcoRI* ce qui ne change rien à son fonctionnement ! *EcoRI* est donc inutile pour identifier la mutation

B) Vrai : la digestion par *EcoRI* et *Pvu II* génère trois coupures aux positions 500, 1700 et 2000 pour un ADN recombinant ne contenant pas d'insert

Plasmide sans insert :  $2000 - 1700 = 300$  pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

C) Vrai : l'insert ne porte pas la mutation donc *Pvu II* ne le coupera pas en deux fragments de 200 pb

Plasmide sans insert : cf. B) on obtient trois fragments de 300 pb, 1200 pb et 1000 pb. On rajoute l'insert au niveau du fragment de 1250 pb

Plasmide avec insert non muté :  $2000 - 1700 = 300$  pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

$$1200 + 400 (\text{insert}) = 1600 \text{ pb}$$

D) Vrai : l'insert est porteur de la mutation qui génère un site de restriction supplémentaire pour *Pvu II* : l'insert va donc être coupé en deux fragments de 200 pb. Les fragments ne contenant pas l'insert ne seront pas concernés et conserveront la même taille

Plasmide avec insert muté :  $2000 - 1700 = 300$  pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

$$1200 + 400 (\text{insert}) = 1600 \text{ pb}$$

L'insert est incorporé en position 600 au sein du fragment de 1600 pb qui le contient. On sait que *Pvu II* va le couper en deux bouts de 200 pb

On a donc un site de coupure supplémentaire à la position 600 avec 200 pb de chaque côté que l'on devra rajouter car l'insert incorporé sera clivé en deux fragments de 200 pb !

Ainsi le fragment de 1600 pb sera donc remplacé par deux fragments de :

$$600 - 500 = 100 \text{ pb}$$

$$200 + 100 = 300 \text{ pb}$$

$$1700 - 600 = 1100 \text{ pb}$$

$$1100 + 200 = 1300 \text{ pb}$$

On peut d'ailleurs vérifier que  $1300 + 300 = 1600$  pb, ce qui correspond bien à la taille totale du fragment avec insert non muté, c'est-à-dire quand *Pvu II* ne coupe pas dans l'insert !

On obtient en réalité deux fragments de 300 pb qui se superposent

E) Faux

---