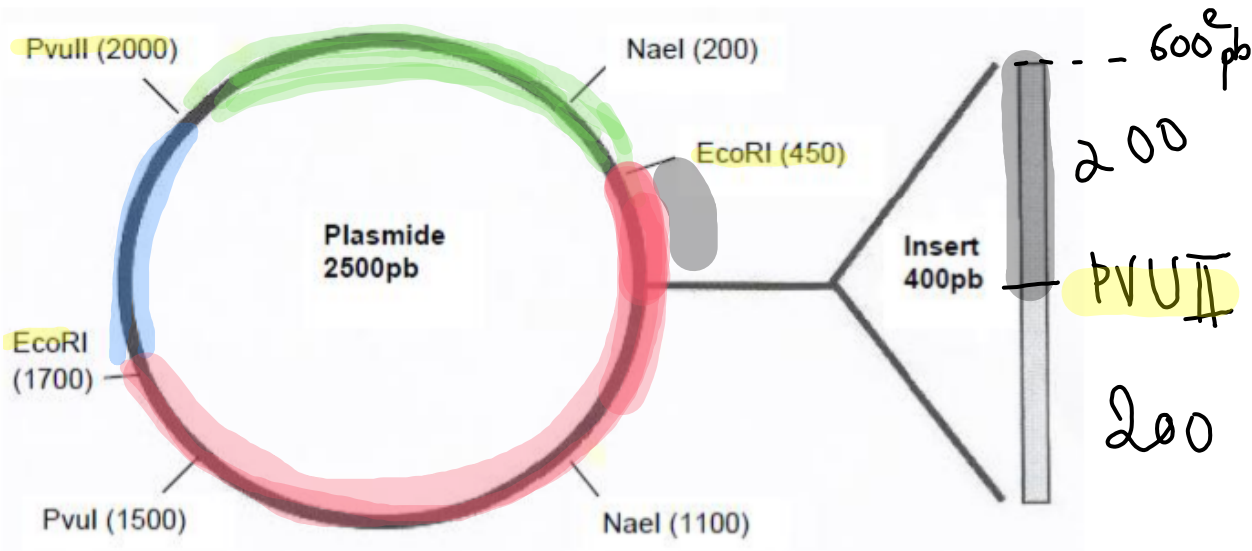


QCM 40 : Vous souhaitez isoler, par clonage moléculaire, les produits PCR provenant d'un patient porteur d'une mutation à l'état hétérozygote. La taille du produit PCR est de 400 pb et la présence de la mutation crée un site *Pvu II* qui clive le produit PCR en 2 fragments de 200 pb (pb : paires de bases). Le produit PCR est inséré en position 600 sur le plasmide. La carte de restriction est schématisée ci-dessous. Les positions des sites de coupure sur le plasmide pour les enzymes de restriction (*Nae I*, *EcoRI*, *Pvu I* et *Pvu II*) sont figurées. Hormis le site *Pvu II*, l'insert ne présente aucun des autres sites présents sur le plasmide.

Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.



Concernant les résultats visualisés sur gel d'agarose, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La digestion par *EcoRI* permettra de différencier les ADN recombinants possédant l'insert avec la mutation de ceux possédant l'insert sans la mutation
- B) La digestion simultanée par *EcoRI* et *Pvu II* libère des fragments à 950, 300 et 1150 pb pour un ADN recombinant ne contenant pas d'insert
- C) La digestion simultanée par *EcoRI* et *Pvu II* libère des fragments à 300, 1650 et 950 pb pour un ADN recombinant contenant un insert ne portant pas la mutation
- D) La digestion simultanée par *EcoRI* et *Pvu II* libère des fragments à 350, 300, 950 et 1300 pb pour un ADN recombinant contenant un insert porteur de la mutation
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

~~On coupe~~ On coupe là où c'est surligné (tous les sites des enzymes dont parle l'énoncé)
 Sans insert : fragment : $1700 - 450$ (combien de pb sépare la 450 pb et la 1700?) = 1250 → on sait déjà que B) faux

 : $2000 - 1700 = 300$ pb

 : le reste → $2500 - (1250 + 300) = 950$ pb

plasmide
TOTAL sans insert

AVEC insert :

non muté : étant donné où est placé l'insert il modifie la taille du fragment : $1250 + 400 = 1650$ pb

muté : 4^e fragment : on voit que le fragment rouge est impacté → rouge avec insert → taille = 1650 350
 ↳ $450 \rightarrow 600 + 200 = 350$ pb