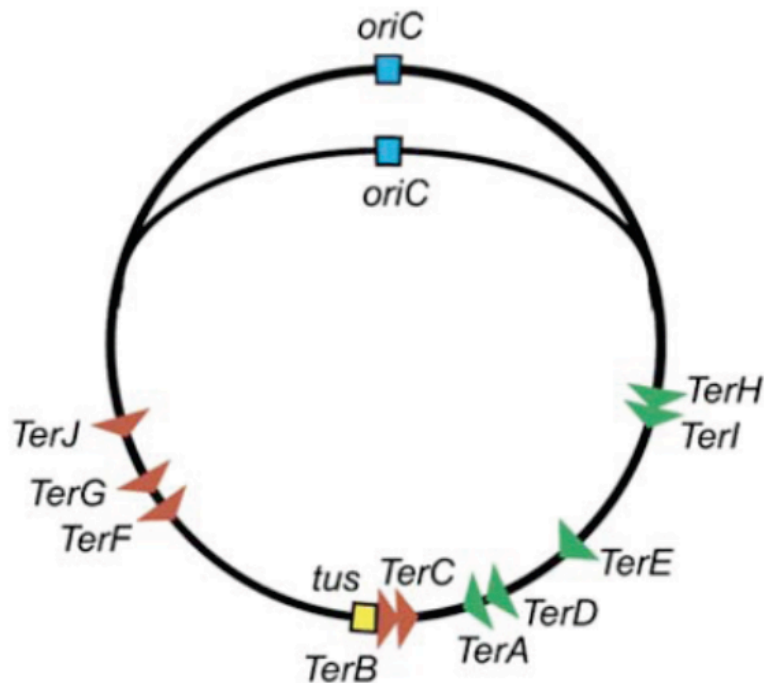


*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents sont interdits.*

**Numéro d'anonymat :**

La figure ci dessous donne une représentation très schématique de l'ADN bactérien en cours de réplication. Annotez cette figure, donnez la fonction et décrivez le mode d'action des différents éléments présents. Vous préciserez le mode d'action en supposant que la fourche de réplication située à droite est la plus rapide des deux fourches. Vous donnerez quelques explications rendant compte du déplacement des fourches à des vitesses non uniformes



---

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents sont interdits.*

---

### Question 1 (7 points)

Vous décrirez, en illustrant par un schéma, (en faisant bien apparaître les polarités des brins de l'ADN), le phénomène particulier observable aux extrémités des chromosomes lors de la réplication.

### Question 2 (7 points)

Le génome circulaire de *Bacillus cereus* renferme  $5,4 \times 10^6$  paires de bases (pb) et contient **une seule origine** de réplication. Suivant les conditions de culture, le temps de génération de cette bactérie est variable. Il s'écoule toujours **10 mn** entre la fin de la réplication et la division cellulaire liée à cette réplication. Analysez la chronologie des événements de division et de réplication pour une population bactérienne de *Bacillus cereus* ayant un temps de génération de **18 minutes**. **Quelles conclusions pouvez-vous en tirer ?** (vitesse maximale de la fourche de réplication chez *Bacillus cereus* : 45000 pb/mn)

### Question 3 (6 points)

Le génome haploïde d'*A. thaliana*, à une taille de 100 Mb et est constitué de 10 chromosomes.

a) Si un chromosome particulier représente 10% du génome haploïde, quelle est la longueur de cette molécule d'ADN en mm.

b) Pour le chromosome de la question a, estimez le temps de réplication en heures, en faisant l'hypothèse qu'il n'y a qu'une seule origine de réplication (située exactement au milieu du chromosome), que la réplication est bidirectionnelle et que la vitesse de synthèse de l'ADN est de :

-1500 pb/seconde pour les cellules procaryotes

-50 pb/seconde pour les cellules eucaryotes

(1Mb :  $10^6$  bp ; 10,5 pb/tour d'hélice ; pas de l'hélice = 3,5 nm),

---

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents sont interdits.*

---

La technique de mutagenèse dirigée appelée technique du **simple brin uracilé** est décrite ci dessous. L'ADN destiné à être muté est inséré préalablement au sein d'un plasmide. La construction obtenue est appelée MutADN. Une phase supplémentaire (non présentée ici) permet d'obtenir l'ADN de la construction mutADN sous la forme d'un simple brin circulaire **uracilé** ou de nombreuses thymines sont remplacées par des uraciles (Figure 1, seules quelques uraciles sur les nombreuses présentes sont représentées). Deux grandes phases interviennent dans le protocole expérimentale, une première phase *in vitro* (étapes 1 et 2 dans la figure 1) et une seconde phase *in vivo* au sein de la bactérie *E. Coli* (étape 3 dans la figure 1). L'étape 1 est une étape d'hybridation qui associe spécifiquement l'ADN simple brin et l'oligonucléotide portant la mutation (indiqué par une étoile dans figure 1) à introduire.

**Question 1 (7 points).**

Associez en choisissant dans la liste ci dessous les différents enzymes et composés nécessaires pour la réalisation des réactions 2 (*in vitro*) et 3 (*in vivo*). La liste renferme des composés et enzymes proposés comme **pouvant** intervenir dans les réactions 2 ou 3.

ATP, Mg<sup>2+</sup>, dNTPs, Tampon Tris-HCl pH 7,8  
ADN polymérase I  
T4 DNA polymérase (porte les mêmes activités que l'ADN Pol III bactérienne)  
T4 DNA Ligase  
AP endonucléase  
DNA Ligase *E. Coli*  
NAD<sup>+</sup>  
Uracile N-Glycosylase  
T4 polynucléotide kinase  
MutS, MuH et MutL  
UvrA, UvrB, UvrC et UvrD

**Question 2 (3 points).** Quelle activité ne doit pas posséder l'enzyme utilisé dans la réaction 2.

**Question 3 (3 points).** L'oligonucléotide de mutagenèse doit présenter des extrémités 5' et 3' avec certaines caractéristiques. Lesquelles ?

**Question 4 (4 points).** Quelles sont les caractéristiques de l'ADN double brin généré au sein de la bactérie. Quel est le mécanisme impliqué dans l'obtention de ce double brin. Décrivez ce mécanisme.

**Question 5 (3 points).** Le simple brin uracilé utilisé dans cette expérience a été généré dans une souche mutante d' *E. coli* déficiente en un gène bien précis. Lequel ?

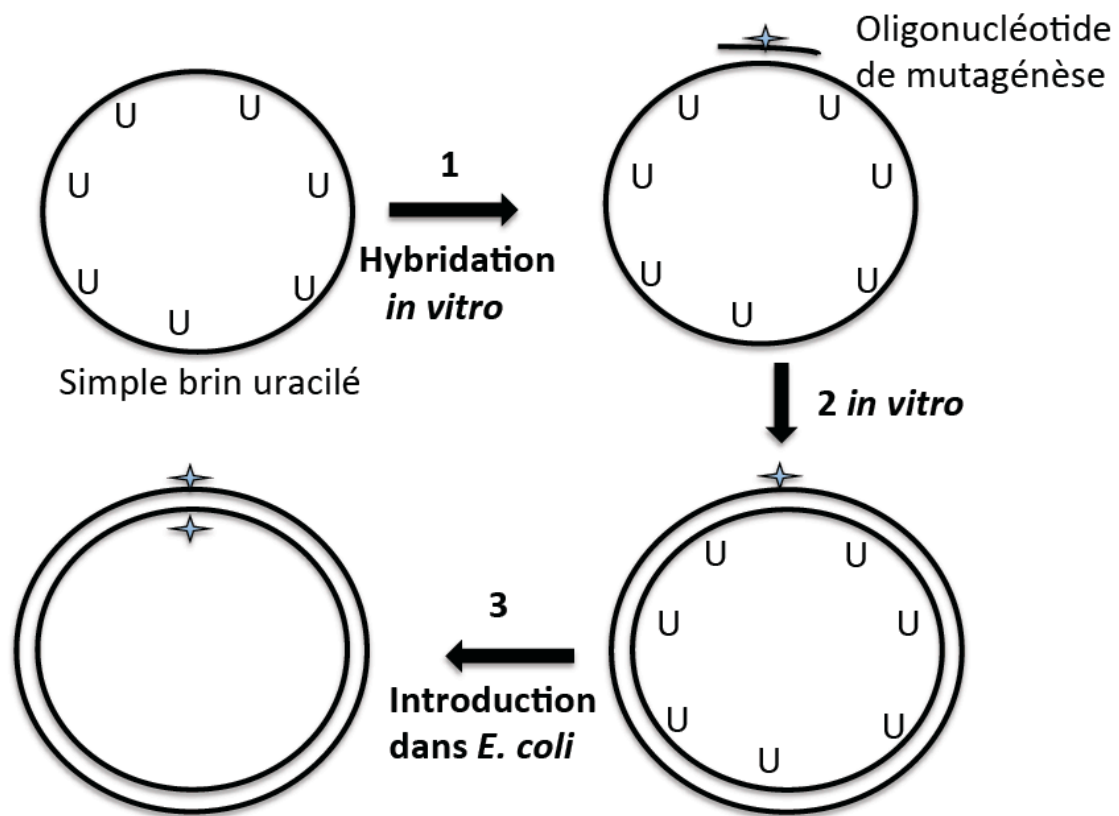


Figure 1. Représentation schématique des différentes étapes de la réaction de mutagenèse dirigée. Les étapes 1 et 2 sont réalisées *in vitro* et l'étape 3 au sein de la bactérie *E. Coli*. Seules quelques unes des uraciles sur les nombreuses présentes sont représentées.