

Université: Mohamed El-bachir El-Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj

Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Environnement

Département: Sciences agronomiques

Année Universitaire: 2021 / 2022



**1 ère année Master – Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie – Filière: Sciences agronomiques –
Spécialité: Amélioration des plantes – 2 ème Semestre**

Section N° 1 Groupe N° 1

Date : 25/05/2022

**Résultats de l'examen de la matière :T.D / Techniques d analyses Biomoléculaires /
Unité Enseignement Méthodologique**

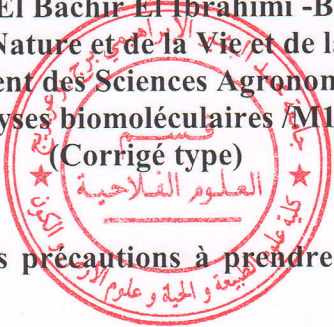
Coef. examen: 60.00 % Coef. CC: 40.00% Coef.de la matière: 03 Crédit: 5.00 Code UE: UE M1

Matière non requise

| N° | Nom et prénoms | Matricule | Etat | Exam | TD | TP | Conf | Sem | Proj | Stage | Autre |
|----|------------------------|--------------|------|-------|-------|----|------|-----|------|-------|-------|
| 1 | ASSAOUI NASREDDINE | 171733063849 | N | 08,50 | 10,75 | | | | | | |
| 2 | ATTIA AIMENE | 161633060837 | N | 05,00 | 08,00 | | | | | | |
| 3 | BELFAR WIDAD | 171733055987 | N | 07,00 | 08,00 | | | | | | |
| 4 | BELMILOUD ICHRAK | 181833056654 | N | 13,25 | 15,50 | | | | | | |
| 5 | BELMILOUD RACHA | 171733059849 | N | 04,50 | 06,00 | | | | | | |
| 6 | BENAISSA OUSSAMA | 181833053124 | N | 05,25 | 08,00 | | | | | | |
| 7 | BENAKMOUME SIHAM | 171733063503 | N | 11,00 | 16,00 | | | | | | |
| 8 | BOUABTA SILIA | 181833055246 | N | 13,00 | 18,50 | | | | | | |
| 9 | BOUATTA MANEL | 181833055281 | N | 11,00 | 16,00 | | | | | | |
| 10 | BOUGUERRA SORAYA | 181833056196 | N | 03,00 | 13,00 | | | | | | |
| 11 | BOUKHETALA RAHIL | 181833060547 | N | 04,25 | 08,50 | | | | | | |
| 12 | CHEKHABA DALAL | 181833056668 | N | 10,50 | 12,50 | | | | | | |
| 13 | CHENOUF RIHAB | 181833053250 | N | 02,00 | 10,00 | | | | | | |
| 14 | CHEROURA AICHA | 211533067907 | N | 09,00 | 09,25 | | | | | | |
| 15 | DADACHE FATIMA | 181833051447 | N | 05,50 | 08,75 | | | | | | |
| 16 | DEHIMAT MOHAMED | 171733058725 | N | 12,00 | 08,75 | | | | | | |
| 17 | FERHAT HOUSSEME EDDINE | 181833054571 | N | 02,50 | 06,25 | | | | | | |
| 18 | FRAHTIA YACINE | 181833050076 | N | — | — | | | | | | |
| 19 | GUESSAM NOUR EL HOUDA | 171733055962 | N | 10,00 | 11,50 | | | | | | |
| 20 | GUEZZOU RAYANE | 181833051238 | N | 09,25 | 12,00 | | | | | | |
| 21 | HADDAD AMINA | 181833051024 | N | 17,00 | 14,50 | | | | | | |
| 22 | HAMMOUCHE MERIEM | 181833051536 | N | 06,75 | 11,00 | | | | | | |
| 23 | HAMZAOUI RANIA | 171733063786 | N | 14,25 | 14,00 | | | | | | |
| 24 | KADJA BELKACEM | 201533072273 | D | 07,00 | 12,75 | | | | | | |
| 25 | KHALÉD ACHOUAK | 171733057199 | N | 06,75 | 15,50 | | | | | | |
| 26 | KHOUDOUR KHALED | 161633064589 | N | 12,00 | 18,50 | | | | | | |
| 27 | LOUNIS TINHINANE | 181833051143 | N | 05,00 | 08,75 | | | | | | |
| 28 | MEBAREK AMDJED | 171733057218 | N | 05,25 | 11,50 | | | | | | |
| 29 | MERAKCHI LOUBNA | 171733068254 | N | 15,00 | 09,00 | | | | | | |
| 30 | MIHOUB AMEL | 181833052548 | N | 04,25 | 10,00 | | | | | | |
| 31 | OUCIF HADJER | 161633071254 | N | — | 08,25 | | | | | | |
| 32 | SADALLAH ABDELMALEK | 181833053849 | N | 01,00 | 09,25 | | | | | | |
| 33 | SATOURI KHAOULA | 171733055634 | N | 05,50 | 16,00 | | | | | | |
| 34 | ZERROUG ABDERREZAK | 161633068560 | N | 10,50 | 09,75 | | | | | | |
| 35 | ZOUAOUI AIMEN AMINE | 161633060923 | N | 04,75 | 02,50 | | | | | | |

T A B T I

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi -Bordj Bou Arreridj-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et de la Terre et de l'Univers
Département des Sciences Agronomiques
Examen : Techniques d'analyses biomoléculaires /M1 Amélioration des plantes
(Corrigé type)



1. **Quelles sont les consignes et les précautions à prendre dans un laboratoire de biologie moléculaire ? (2 pts).**
 - Dans un laboratoire de biologie moléculaire, Il est important de suivre les consignes d'hygiène et de sécurité des biens et des personnes.
 - Il faut impérativement travailler avec blouse et avec des gants.
 - Certains solvants nécessitent d'être préparés et manipulés sous des hottes chimiques.
 - Manipuler avec prudence les produits dangereux tels que le BET (bromure d'éthidium), classé parmi les CMR.
 - Les appareils utilisés peuvent être une source de danger ; manipuler soigneusement ces appareils.
 - Travailler sans gaspillage des produits

2. **Quelles sont les étapes de la PCR en donnant la température de chaque étape ? (1.5 pts)**
 - Dénaturation 95°
 - Hybridation des amorces : 50-65
 - Elongation : 72°

3. **Quelle est la particularité de l'enzyme Taq polymérase ? (1 pts)**

La taq-polymérase est une enzyme thermostable ayant la capacité de résister aux températures élevées.

4. **Comment on analyse la pureté de l'ADN en utilisant le spectrophotomètre (nanodrop) ? (3 pts)**

On analyse la pureté de l'ADN en utilisant le spectrophotomètre en calculant les deux ratio :

Le ratio A260 nm/280 nm:
Ce ratio explique la pureté des acides nucléiques (évaluer la contamination de protéines dans une solution d'acides nucléiques).
D'une manière générale, la pureté d'une solution d'acide nucléique est considérée comme acceptable lorsque le ratio A260 nm/A280 nm est compris entre 1,8 – 2,0 pour l'ADN et entre 2,0 – 2,2 pour l'ARN.

Le ratio A260 nm/A230 nm:
Ce ratio est un deuxième indicateur de pureté, il est généralement plus élevé que le ratio A260/A280. Un ratio A260/A230 compris entre 2,0 – 2,2 indique une bonne pureté des acides nucléiques. Lorsque ce ratio est significativement plus faible que 2,0 – 2,2, cela révèle la présence de contaminants absorbant à 230 nm dans la solution (le phénol, les carbohydrates, les peptides, l'acide humique, l'urée, l'EDTA, les polysaccharides).

5. Donner les critères de choix d'un bon marqueur moléculaire (2.5 pts).

- Être polymorphe, c'est à dire posséder plus d'un allèle dans la population étudiée (variable entre individus).
- Être co-dominant, ce qui signifie qu'un hétérozygote peut être différencié des homozygotes c'est-à-dire absence d'interaction intra locus.
- Non épistatique, c'est-à-dire que son génotype peut être lu à partir de son phénotype quel que soit le génotype des autres locus (absence d'interaction inter locus).
- Être neutre, c'est-à-dire que son polymorphisme est sans effet sur la variabilité phénotypique
- Être insensible au milieu, c'est-à-dire le génotype peut être inféré à partir du phénotype quel que soit le milieu.
- Reproductible d'une expérience à une autre

6. Donner brièvement les étapes de la technique RFLP (2 pts). Expliquer les causes du polymorphisme chez les marqueurs RFLP (1.5 pts)

- Clivage enzymatique par des enzymes de restriction
- Electrophorèse sur gel d'agarose
- Dénaturation des fragments
- Transfert sur un support solide (membrane de nylon ou de nitrocellulose)
- Fixation de l'ADN sur la membrane
- Hybridation avec une sonde radio marquée dénaturée
- Lavage
- Autoradiographie

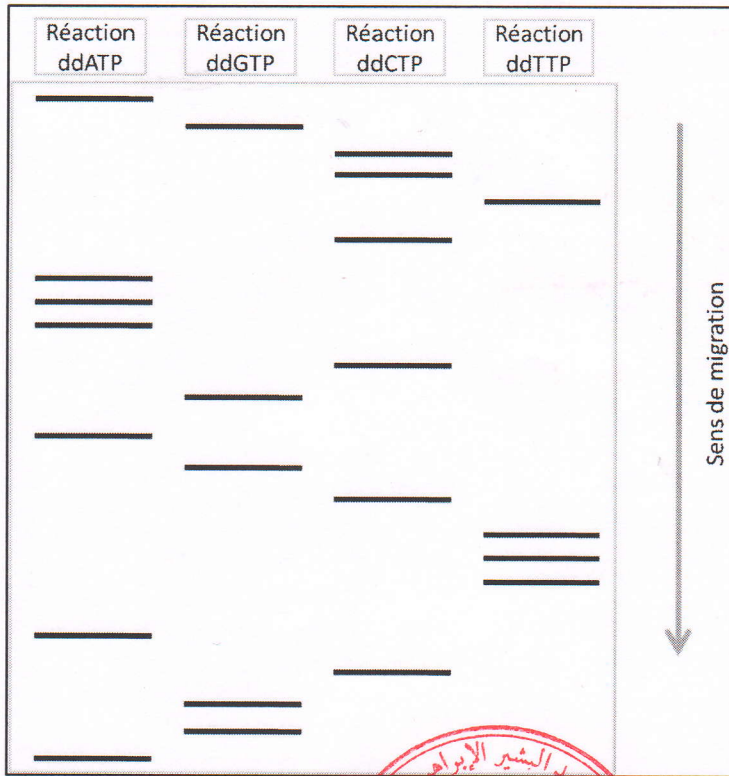
Les causes du polymorphisme :

- Perte ou gain d'un site de restriction
- Mutation de type insertion-délétion

7. Quels sont les inconvénients de la sélection assistée par marqueurs ? (1.5 pts)

- Coût élevé;
- Elle est souvent **inefficace** pour la sélection de **caractères agronomiques à déterminisme génétique complexe** (comme le rendement, par exemple), gouvernés par un grand nombre de gènes ou de QTL (Quantitative Trait Loci) qui interagissent et dont la plupart sont encore inconnus.

8. Ci-après un gel d'électrophorèse obtenu après un séquençage d'un fragment d'ADN avec la technique de Sanger.



a. Expliquer la technique de séquençage utilisée en donnant son principe (4 pts).

C'est une méthode basée sur l'interruption de la synthèse enzymatique d'un brin d'ADN complémentaire: arrêt d'élongation.

L'ADN à séquencer est cloné (de nombreuses copies). L'ADN simple brin sont produites. Une courte amorce d'oligonucléotides (marquée) est ajoutée à l'ADN. Le point de fixation de l'amorce sert de point de départ pour la synthèse du brin complémentaire. La polymérase avec les ions Mg^{2+} sont ajoutés avec:

- Les 4 nucléotides normaux en excès: d-ATP, d-CTP, d-GTP et d-TTP;
- 4 nucléotides analogues (des **didésoxyribonucléotides: ddNTP**) dans des incubations séparées. Les ddNTP sont identiques aux nucléotides normaux sauf que les groupes hydroxyles (OH) du carbone 3' des désoxyriboses sont remplacés par des hydrogènes (H). La polymérase ne peut pas distinguer ce substrat des nucléotides normaux. L'intégration d'un ddNTP dans le brin synthétisé entraîne l'arrêt de l'élongation en raison de l'absence du groupement OH, nécessaire à l'extension.

Les 4 incubations contiennent donc un mélange de molécules partiellement synthétisées d'ADN double brin marqué. La longueur des fragments d'ADN varie en fonction du point d'intégration du **didésoxyribonucléotide**. Comme cette intégration est aléatoire, l'ensemble des molécules dans un mélange représente l'ensemble des positions pour une base particulière. Les 4 mélanges sont analysés simultanément sur un gel d'électrophorèse. Les bandes sont révélées par autoradiographie et la séquence est lue directement sur le gel.

b. Donner la séquence de l'ADN séquencé (1 pt).

c. 5'AGGCATTCGAGCAA-3'