

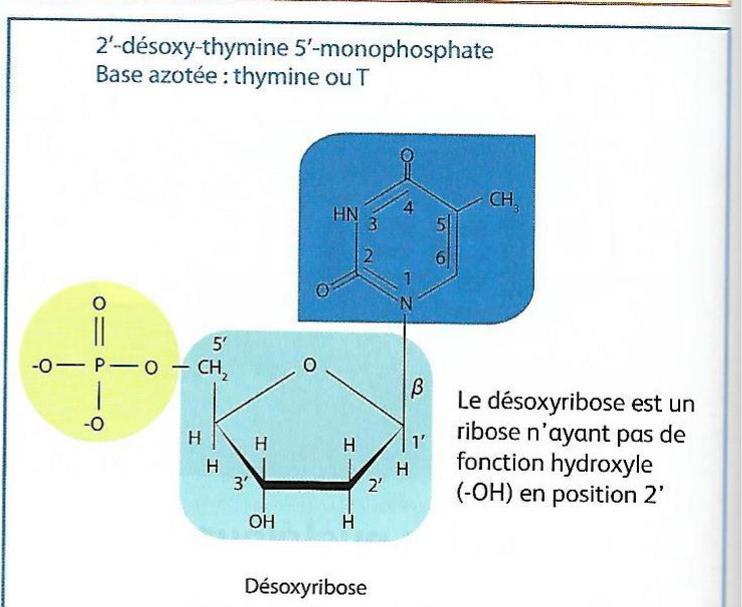
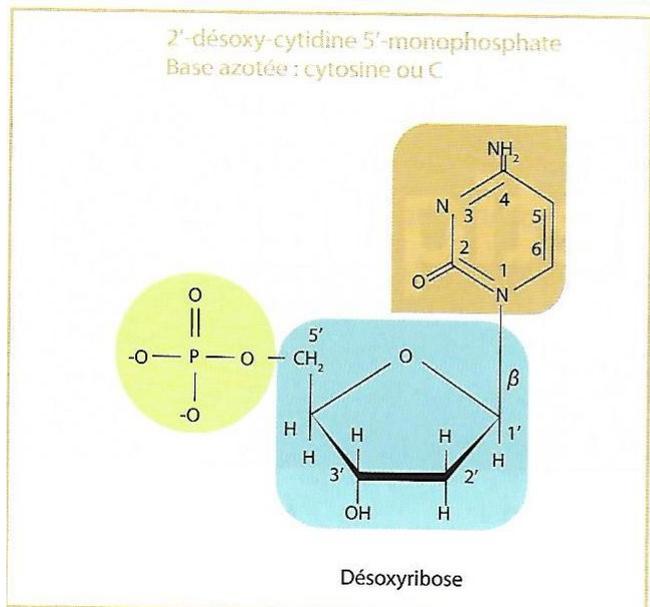
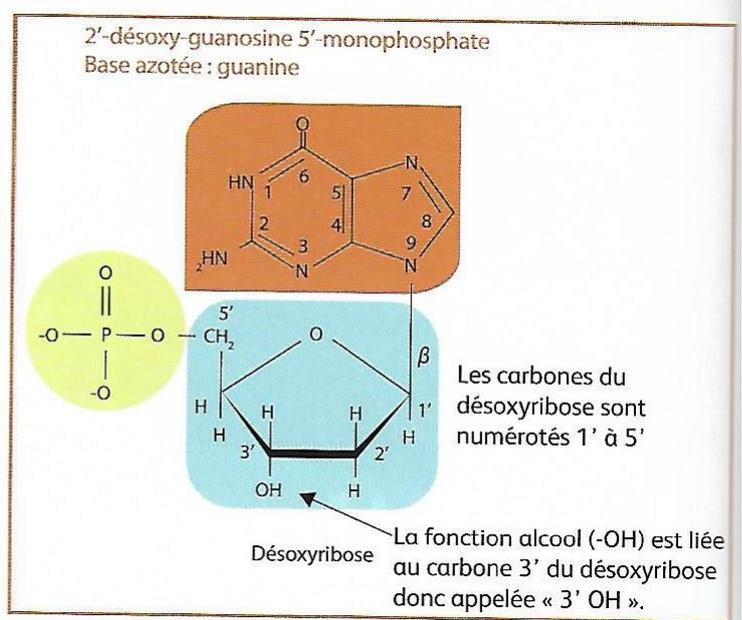
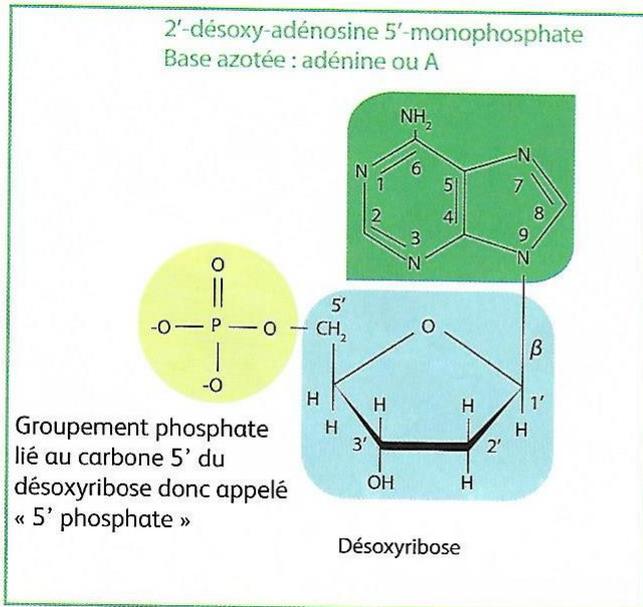
**AD n°1 :** Les nucléotides et leur assemblage.

**Document 1 :** Les nucléotides, monomères constitutifs des acides nucléiques. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.214.

Les nucléotides sont composés d'un désoxyribose ou d'un ribose lié en 5' à un groupement et en 1' à une base azotée adénine, guanine, cytosine, thymine ou uracile. Chaque nucléotide est symbolisé A, C, G, T ou U, sigle correspondant à sa base azotée.

Les désoxyribonucléotides (A, G, C et T) sont les nucléotides composant l'ADN. L'ose constitutif est alors le désoxyribose.

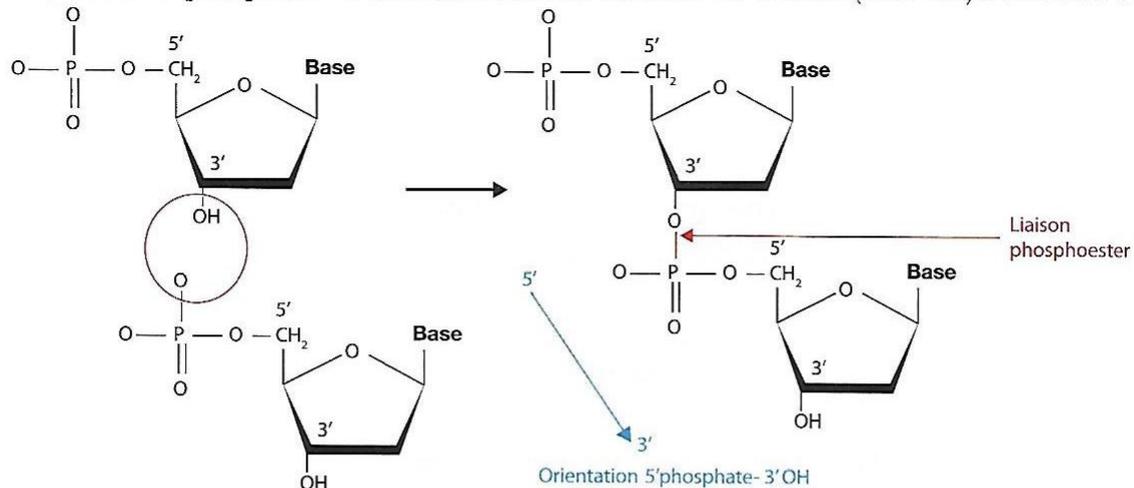
Les ribonucléotides (A, G, C et U) sont les nucléotides composant l'ARN. L'ose constitutif est alors le ribose.



1. Repérer deux critères distinguant désoxyribonucléotides et ribonucléotides, après avoir rappelé leurs différents composants moléculaires.
2. Expliquer la signification des dénominations « 5' phosphate » et « 3' OH ».
3. Observer la structure des bases azotées et en déduire un critère distinctif.

**Document 2** : Une liaison covalente relie les nucléotides entre eux dans les molécules d'acides nucléiques. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.215.

Les nucléotides sont associés entre eux par des liaisons covalentes « phosphoester » (ou ester phosphorique) entre la fonction acide du « 5' phosphate » d'un nucléotide et la fonction « 3' alcool » (ou 3' OH) d'un autre nucléotide.



Il en résulte un polymère linéaire de nucléotides dont les extrémités 5' phosphate et 3' OH sont libres. Le polymère nucléotidique est dit orienté : orientation dans le sens 5'– 3' ou 3'– 5'.

Les polymères nucléotidiques peuvent être représentés schématiquement en utilisant l'initiale de chaque base azotée pour désigner chaque nucléotide du polymère (ATGC pour l'ADN et AUGC pour l'ARN).

Un polymère nucléotidique (souvent appelé un « ADN » ou un « ARN ») se caractérise :

– par sa taille : le nombre de nucléotides est exprimé dans une unité particulière : b pour bases ou kb pour kilobases ;

– par sa séquence (enchaînement des nucléotides repérés par les bases).

Il s'agit d'un oligonucléotide s'il est composé de quelques dizaines de nucléotides. Au-delà, il s'agit d'un polynucléotide.

#### Représentation schématique de la séquence d'un polymère nucléotidique

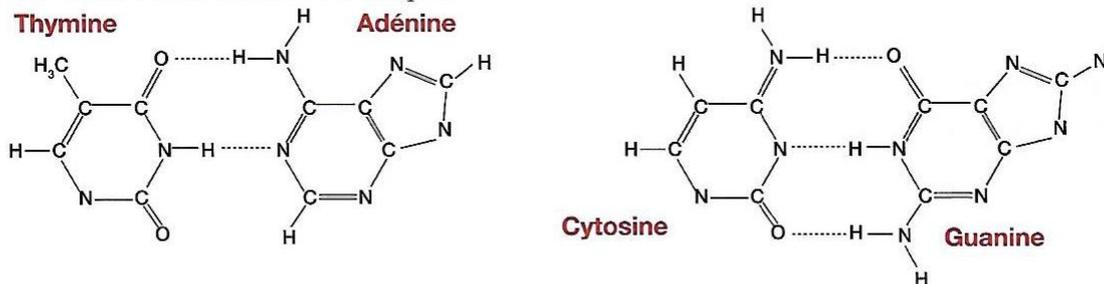
**5'ATGCAGCTTTTAGCACGTTTTTACGTTTCTATTTTGGGCATCGGGGCCA3'**

4. Argumenter l'appartenance de ce polymère nucléotidique aux molécules d'ADN ou d'ARN.
5. Rappeler la liaison permettant l'assemblage des nucléotides dans un polymère de nucléotides. Indiquer les fonctions chimiques qu'elle associe entre deux nucléotides.
6. Convertir la taille d'un polymère de 1235 bases en kilobases.
7. Expliquer le terme de « séquence » d'acide nucléique.

## AD n°2 : L'ARN et l'ADN.

**Document 1** : La complémentarité des bases azotées. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.216.

Les bases azotées sont complémentaires deux à deux : l'adénine s'associe à la thymine et l'uracile et la guanine s'associe à la cytosine. Cette complémentarité repose sur l'établissement d'interactions hydrogène entre les deux bases azotées du couple.

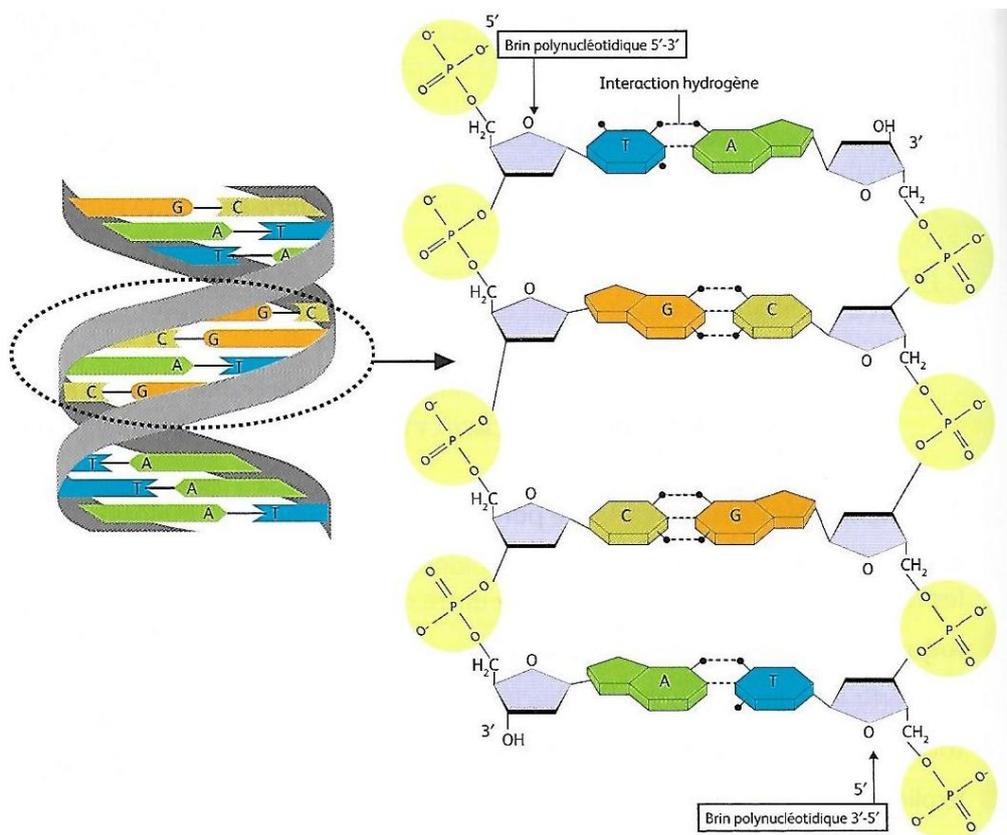


Aucune interaction hydrogène ne peut être mise en place entre les autres couples possibles de bases azotées.

1. Indiquer le nombre d'interactions hydrogène entre la thymine et l'adénine.
2. Indiquer le nombre d'interactions hydrogène entre la cytosine et la guanine.
3. En déduire quelles associations G-C ou A-T est la plus solide.

**Document 2** : La molécule d'ADN forme une double hélice. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.216.

L'ADN est une macromolécule composée de deux brins polynucléotidiques associés par des interactions hydrogène. Les deux brins s'enroulent pour former une hélice dite « double hélice ». La molécule d'ADN double brin (« ADN db ») est stabilisée grâce à de nombreuses interactions faibles : des interactions hydrogène entre les bases azotées complémentaires ainsi que des interactions hydrophobes (le centre de la double hélice est composé de bases azotées dont le centre du cycle est apolaire, provoquant des attractions entre elles par interactions hydrophobes). Les deux brins d'ADN sont dits « complémentaires » et « antiparallèles ».



4. Argumenter l'utilisation du terme « bicaténaire » pour caractériser un ADN pb.
5. Rappeler pourquoi les deux brins d'ADN sont dits « complémentaires ».
6. Émettre une hypothèse sur l'utilisation du terme « antiparallèle ».
7. Indiquer les interactions à rompre pour passer d'une molécule d'ADN double brin (ADNdb) à une forme simple brin (ADNsb).

**AD n°3** : extraction et purification de l'ADN.

**Document 1** : Localisation des acides nucléiques cellulaires. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.218.

Les acides nucléiques sont répartis différemment dans une cellule procaryote, comme les cellules bactériennes, et dans une cellule eucaryote, comme une cellule végétale.

Acides nucléiques	Cellule procaryote	Cellule eucaryote
ADN*	Cytoplasme	Noyau
ARN ribosomaux, ARN de transfert et ARN messager		Cytoplasme

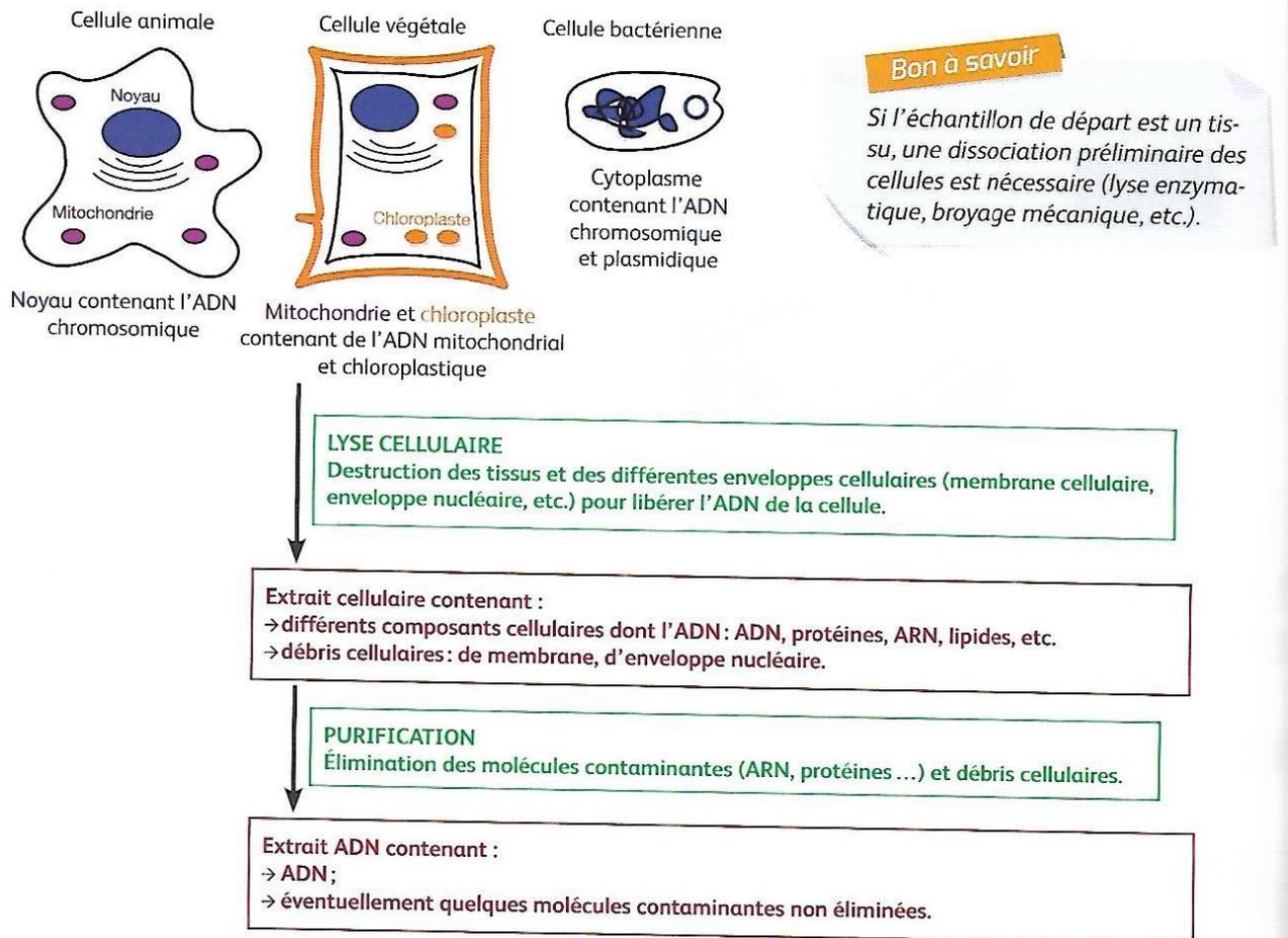
\*L'ADN d'une bactérie est constitué d'un ADN chromosomique et éventuellement d'ADN plasmidique. L'ADN des cellules eucaryotes est organisé en plusieurs chromosomes. Certains organites des cellules eucaryotes, chloroplastes et mitochondries, contiennent aussi de l'ADN.

L'extraction des acides nucléiques d'une cellule débute par une lyse cellulaire permettant la destruction des enveloppes cellulaires et la libération des acides nucléiques du contenu cellulaire.

1. Rappeler les enveloppes cellulaires à détruire pour libérer les acides nucléiques d'une cellule procaryote.
2. Faire de même pour une cellule eucaryote.

**Document 2** : Organigramme des différentes étapes d'une extraction-purification d'ADN cellulaire. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.224.

Pour chaque étape, l'encadré vert présente le nom de l'étape et son rôle et l'encadré rouge présente le nom de l'extrait obtenu à l'issue de l'étape et sa composition.



3. Indiquer le(s) produit(s) biologique(s) de départ.
4. Expliquer l'intérêt de la purification de l'extrait cellulaire.

**Document 3** : Principaux réactifs pour lyser les cellules au cours d'une extraction d'ADN. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.224.

L'extraction cellulaire consiste à lyser les cellules pour libérer le contenu cellulaire. La lyse cellulaire s'effectue en utilisant des réactifs et des conditions permettant de déstructurer les enveloppes des différents compartiments emprisonnant l'ADN. Elle s'effectue sur un culot de cellules obtenu après centrifugation et élimination du surnageant (milieu extracellulaire) et dans un tampon permettant une bonne solubilisation.

Catégorie des réactifs	Rôle	Exemples
Détergents	Molécule amphiphile (possédant un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe) qui, en s'intégrant aux membranes cellulaires, les désorganise, et qui dénature les protéines membranaires	SDS (dodécylsulfate de sodium), triton, Tween, CTAB (bromure de cétrimonium), etc.
Dénaturants protéiques	Molécule qui fragilise les interactions faibles des molécules protéiques en déstabilisant leur structure tridimensionnelle.	SDS, urée, sels de guanidium, NaOH, etc.
Agents réducteurs des ponts disulfures	Molécule qui rompt la liaison covalente entre deux fonctions thiol (-SH) d'acides aminés comme la cystéine, facilitant la dénaturation des protéines	DTT (dithiothréitol), $\beta$ -mercaptoéthanol, etc.
Enzymes hydrolytiques (hydrolases)	Protéines qui catalysent la réaction d'hydrolyse d'une molécule cible des enveloppes cellulaires ou du cytosol	Lysosyme, cellulase, etc.

- Rappeler les différents compartiments cellulaires contenant de l'ADN cellulaire.
- Indiquer les molécules cibles des différents réactifs utilisés pour lyser les cellules.

- Indiquer le(s) produit(s) biologique(s) de départ.
- Expliquer l'intérêt de la purification de l'extrait cellulaire.

**Document 3** : Principaux réactifs pour lyser les cellules au cours d'une extraction d'ADN. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.224.

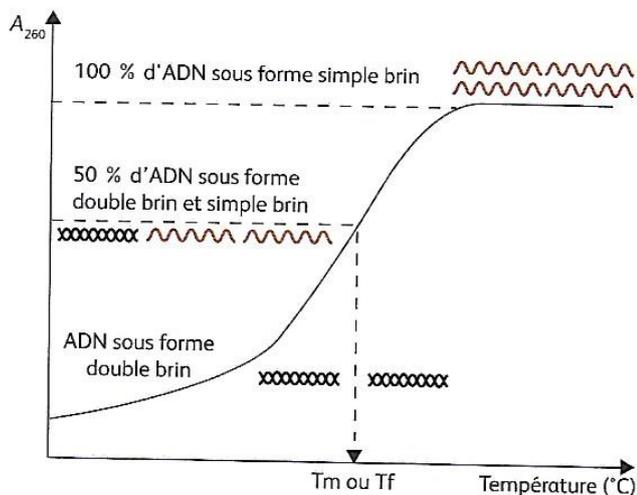
L'extraction cellulaire consiste à lyser les cellules pour libérer le contenu cellulaire. La lyse cellulaire s'effectue en utilisant des réactifs et des conditions permettant de déstructurer les enveloppes des différents compartiments emprisonnant l'ADN. Elle s'effectue sur un culot de cellules obtenu après centrifugation et élimination du surnageant (milieu extracellulaire) et dans un tampon permettant une bonne solubilisation.

Catégorie des réactifs	Rôle	Exemples
Détergents	Molécule amphiphile (possédant un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe) qui, en s'intégrant aux membranes cellulaires, les désorganise, et qui dénature les protéines membranaires	SDS (dodécylsulfate de sodium), triton, Tween, CTAB (bromure de cétrimonium), etc.
Dénaturants protéiques	Molécule qui fragilise les interactions faibles des molécules protéiques en déstabilisant leur structure tridimensionnelle.	SDS, urée, sels de guanidium, NaOH, etc.
Agents réducteurs des ponts disulfures	Molécule qui rompt la liaison covalente entre deux fonctions thiol (-SH) d'acides aminés comme la cystéine, facilitant la dénaturation des protéines	DTT (dithiothréitol), $\beta$ -mercaptoéthanol, etc.
Enzymes hydrolytiques (hydrolases)	Protéines qui catalysent la réaction d'hydrolyse d'une molécule cible des enveloppes cellulaires ou du cytosol	Lysosyme, cellulase, etc.

- Rappeler les différents compartiments cellulaires contenant de l'ADN cellulaire.
- Indiquer les molécules cibles des différents réactifs utilisés pour lyser les cellules.

**AD n°4** : Courbe de fusion d'ADN bicaténaire.

**Document 1** : Courbe de fusion d'un ADN bicaténaire  $A_{260}=f(\text{température})$ .Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 3 p.220.

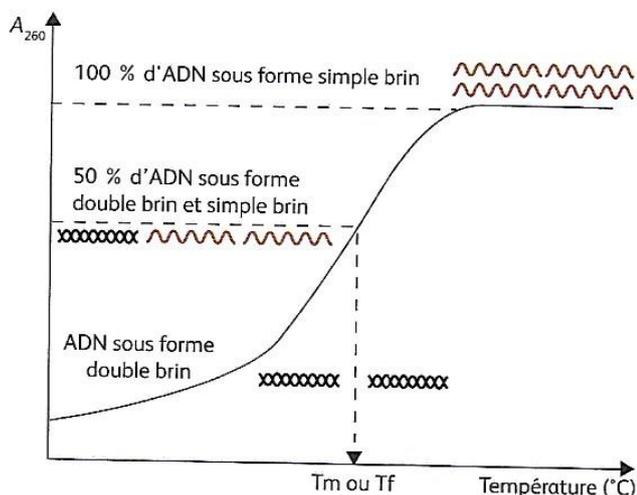


La courbe de fusion d'un ADN bicaténaire est le résultat du suivi de l'évolution de l'absorbance à 260 nm en fonction de la température. Elle permet la détermination d'une température particulière :  $T_m$  (*melting temperature*) (en français :  $T_f$ , température de fusion). La  $T_m$  varie d'un ADN à l'autre.

1. Rappeler la conséquence de l'augmentation de la température sur une solution d'ADN bicaténaire.
2. Montrer que l'effet hyperchrome est mis en évidence par la courbe de fusion.
3. Proposer une définition de la température de fusion d'un ADN.
4. Expliquer la raison des différences de  $T_m$  d'un ADN à l'autre.

**AD n°4** : Courbe de fusion d'ADN bicaténaire.

**Document 1** : Courbe de fusion d'un ADN bicaténaire  $A_{260}=f(\text{température})$ .Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 3 p.220.



La courbe de fusion d'un ADN bicaténaire est le résultat du suivi de l'évolution de l'absorbance à 260 nm en fonction de la température. Elle permet la détermination d'une température particulière :  $T_m$  (*melting temperature*) (en français :  $T_f$ , température de fusion). La  $T_m$  varie d'un ADN à l'autre.

1. Rappeler la conséquence de l'augmentation de la température sur une solution d'ADN bicaténaire.
2. Montrer que l'effet hyperchrome est mis en évidence par la courbe de fusion.
3. Proposer une définition de la température de fusion d'un ADN.
4. Expliquer la raison des différences de  $T_m$  d'un ADN à l'autre.

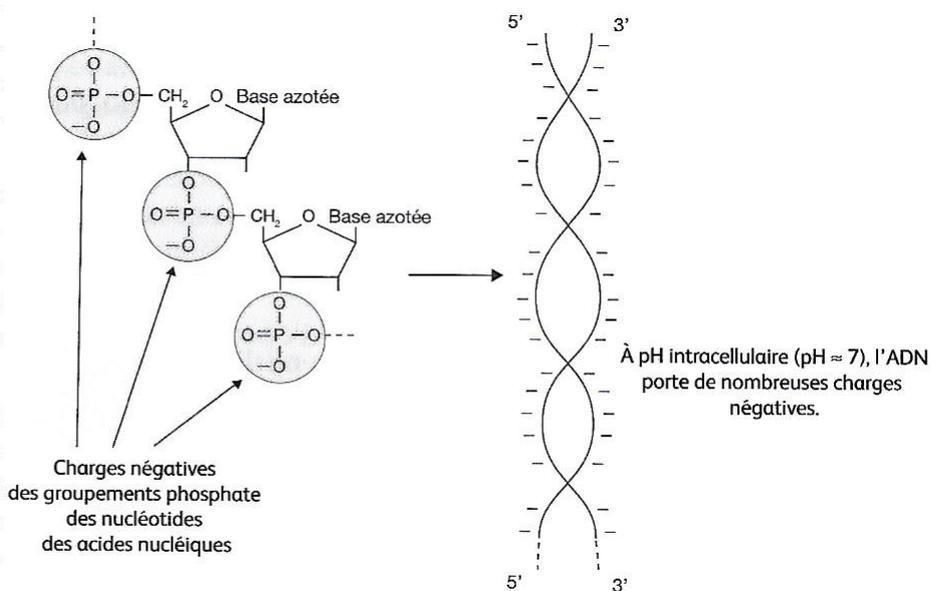
**AD n°5** : Les propriétés chimiques de l'ADN.

**Document 1** : Les groupements phosphates des acides nucléiques sont chargés négativement à pH 7. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.221

La charge globale d'un acide nucléique dépend du pH de son environnement. À pH 7 à 8, les acides nucléiques sont chargés négativement.

Les polymères d'acides nucléiques portent autant de charges négatives que de nucléotides. Ces nombreuses charges négatives font des polymères d'acides nucléiques des polyanions.

Comme les molécules d'eau (à pH 7) portent aussi des charges dites « partielles », des interactions peuvent s'établir entre ces charges et les charges négatives des groupements phosphate.



1. Argumenter l'affirmation suivante « les polymères d'acides nucléiques portent autant de charges négatives que de nucléotides. Ces nombreuses charges négatives font des polymères d'acides nucléiques des polyanions ».
2. Expliquer, si en milieu acide, les groupements phosphate sont, comme en milieu neutre chargés négativement.
3. Expliquer la raison de la solubilité des acides nucléiques dans l'eau à pH=7.
4. Rappeler l'adjectif utilisé pour qualifier une molécule soluble dans l'eau.

**Document 2** : La solubilité des acides nucléiques dépend de la concentration en cations du solvant. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.221

Dans une solution à force ionique élevée, où la concentration en cations monovalents est importante (à environ  $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), les charges négatives des acides nucléiques interagissent avec les charges positives des cations. Les acides nucléiques ne pouvant plus interagir avec les molécules d'eau précipitent.

**Bon à savoir**

La force ionique d'une solution dépend de la concentration et de la charge en ions de la solution. Elle s'exprime en  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

1. Rappeler le comportement des acides nucléiques dans l'eau à pH=7 à l'aide d'un schéma montrant les interactions entre les charges des acides nucléiques et les charges partielles des molécules d'eau.
2. Réaliser un autre schéma montrant l'effet des cations sur la précipitation des acides nucléiques dans l'eau.

**AD n°6** : Les différents types d'hydrolyse.

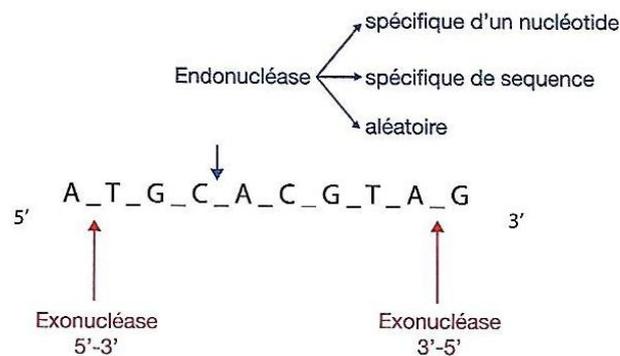
**Document 1** : Les différents types d'hydrolyse des acides nucléiques. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.222.

La dégradation des molécules d'acides nucléiques peut se faire par hydrolyse chimique ou enzymatique. L'hydrolyse est une rupture, en présence de molécules d'eau, des liaisons covalentes phosphoester entre les nucléotides, voire une rupture entre les différentes molécules constitutives des nucléotides :

- l'hydrolyse chimique en milieu acide et à chaud affecte l'ensemble des acides nucléiques (ADN et ARN) et permet la libération des différents constituants des acides nucléiques (oses, bases azotées et phosphates) ;
- l'hydrolyse chimique en milieu basique affecte différemment ADN et ARN ;
- l'hydrolyse enzymatique des liaisons phosphoester est catalysée par des nucléases.

Les nucléases sont classées en fonction :

- de la localisation de l'attaque de la chaîne nucléotidique : les endonucléases catalysent l'hydrolyse de liaisons à l'intérieur et les exonucléases à l'extrémité de la chaîne ;
- de la nature du substrat : les DNases (désoxyrinonucléases) sont spécifiques de l'ADN et les RNases (ribonucléases) sont spécifiques de l'ARN ;
- de la structure de l'acide nucléique : double ou simple brin ;
- de la reconnaissance des sites de coupures : un nucléotide ou une séquence de nucléotides.



Certaines endonucléases sont appelées « endonucléases de restriction » (ou enzymes de restriction), car elles catalysent la coupure d'un ADN bicaténaire au niveau d'une séquence spécifique de quelques nucléotides appelée « site de restriction ».

1. Indiquer le type d'hydrolyse permettant une dégradation complète des acides nucléiques entraînant une libération des différents constituants (oses, bases azotées et phosphates).
2. Proposer une définition du terme nucléase.
3. Expliquer la différence entre les endonucléases et les exonucléases.

**AD n°7** : Les enzymes de restriction.

**Document 1** : Quelques exemples d'enzymes de restriction. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.241.

Enzymes	Sites de restriction avec la position de la coupure (symbolisée par  ) N = tout nucléotide	Microorganismes
<i>Alu I</i> (se dit Alu 1)	AGICT	<i>Arthrobacter luteus</i>
<i>BamH I</i> (se dit Bam H 1)	GIGATCC	<i>Bacillus amyoliquefaciens</i>
<i>Bgl I</i> (se dit B G L 1)	GCCNNNNGCC	<i>Bacillus globigii</i>
<i>Bgl II</i> (se dit B G L 2)	AIGATCT	<i>Bacillus globigii</i>
<i>EcoR I</i> (se dit Eco R 1)	GIAATTC	<i>Escherichia coli</i>
<i>Hae III</i> (se dit H A E 3)	GGICC	<i>Haemophilus aegyptius</i>
<i>Hind III</i> (se dit Hind 3)	A AGCTT	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Sal I</i> (se dit Sal 1)	GITCGAC	<i>Streptomyces albus</i>
<i>Xho I</i> (se dit Xo 1)	CITCGAG	<i>Xanthomonas holcicola</i>

**Bon à savoir**

Les trois premières lettres du nom de l'enzyme donnent son origine bactérienne. Elles s'écrivent donc en italique, comme pour les bactéries. Le chiffre romain donne l'ordre de découverte des endonucléases ayant une même origine bactérienne.

Seul un brin du site de restriction est donné avec sa coupure, le second se déduit grâce à la règle de complémentarité des bases.

Certains sites de restriction sont coupés au centre de la séquence, comme le site de restriction de l'enzyme AluI. Après coupure, les fragments obtenus sont dits à bouts francs. D'autres sites sont coupés de manière décalée par rapport au centre du site, comme pour le site de restriction de l'enzyme BamHI. Après coupures, les fragments obtenus sont dits à bouts collants ou cohésifs.

1. Ecrire le site de restriction complet, c'est-à-dire sous forme bicaténaire, de l'enzyme AluI.
2. Faire de même pour le site de restriction de l'enzyme BamHI.
3. Utiliser les deux restrictions par AluI et BamHI pour émettre une hypothèse sur la dénomination « bouts francs » et « bouts collants ou cohésifs » pour les fragments obtenus après la restriction.
4. Relever dans le document 1 une autre enzyme générant des bouts francs et une autre générant des bouts collants.

**Document 2** : Les caractéristiques des sites de restriction. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 3 p.242.

Les sites de restriction sont constitués d'un nombre limité de nucléotides. La majorité des sites de restriction sont constitués de 6 nucléotides. Ils sont souvent palindromiques, c'est-à-dire que les séquences nucléotidiques des deux brins sont identiques si elles sont lues dans le même sens, par exemple de 5' vers 3'. Les sites de restriction présentent souvent une symétrie inversée par rapport à leur centre. Par exemple, pour le site AluI : AGCT (CT est complémentaire de GA) et pour le site BamHI : GGATCC (TCC est complémentaire de AGG).

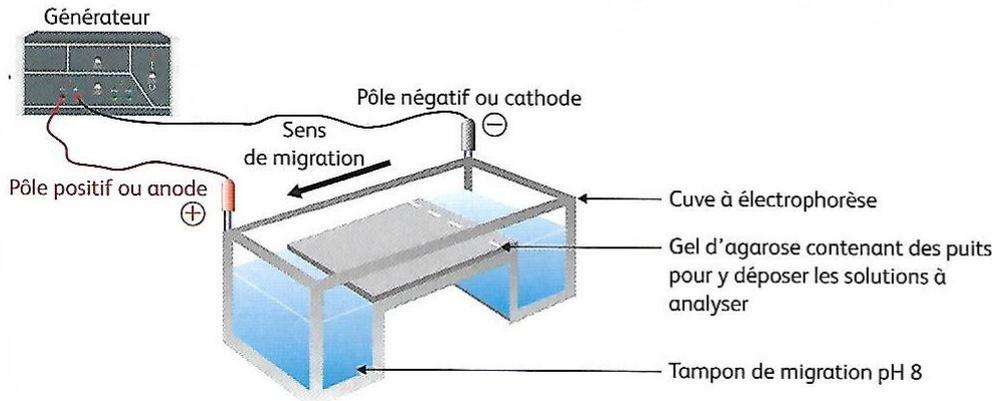
5. Ecrire le site de restriction Hind III sous sa forme double brin et vérifier que ce site peut être qualifié de palindromique.
6. Montrer que le site de restriction Sall présente une symétrie inversée par rapport à son centre.

**AD n°8** : Restriction et électrophorèse en gel d'agarose.

**Document 1** : L'électrophorèse, une méthode séparative de molécules chargées. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 1 p.223.

Pour être séparées par électrophorèse en gel, les molécules à séparer doivent être chargées. Placées dans un champ électrique, elles migrent alors vers le pôle opposé à leur charge globale. Toutes les molécules ne progressent pas à la même vitesse dans le gel, ce qui permet de les séparer.

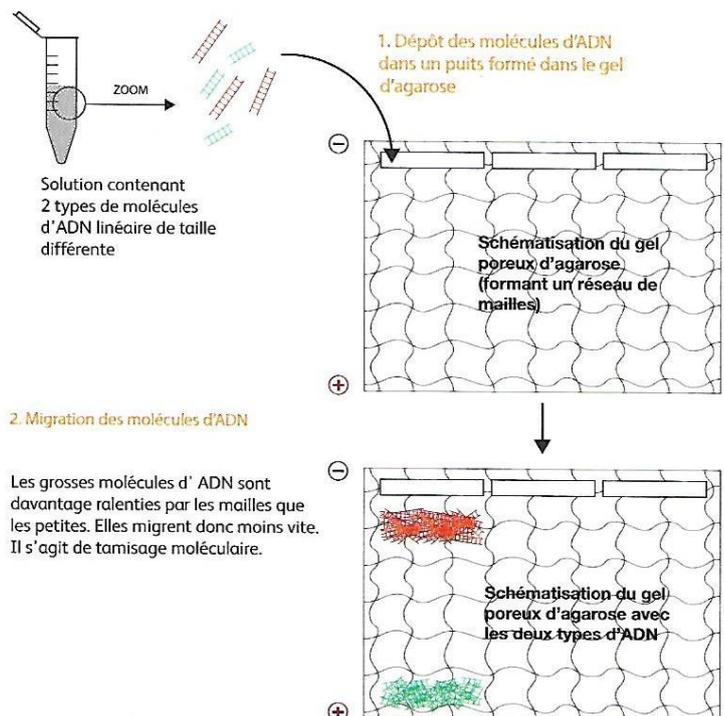
**Electrophorèse en gel d'agarose des molécules d'acides nucléiques**



Le tampon pH 8 est utilisé pour préparer le gel d'agarose et pour la migration électrophorétique des molécules d'acides nucléiques.

1. Rappeler la charge globale d'une molécule d'ADN.
2. Expliquer l'emplacement des puits du côté pôle négatif de la cuve à électrophorèse.

**Document 2** : Principe de la séparation des molécules d'ADN en électrophorèse de gel d'agarose. Delagrave, Biotechnologies, Terminale STL, 2017, doc 2 p.223.



Le gel d'agarose forme un polymère poreux. Les molécules d'ADN progressent au travers des pores du gel d'agarose. Elles forment après migration une bande de la longueur des puits. Les bandes d'ADN sont non visibles et doivent être révélées.

3. Observer le schéma ci-contre et expliquer pourquoi la molécule d'ADN signalée en vert migre plus vite que celle signalée en rouge.
4. Reproduire le gel schématisé, et représenter le sens de migration des molécules d'ADN. Argumenter la réponse.

Des logiciels de bioinformatique permettent de simuler une restriction enzymatique et d'obtenir virtuellement les produits de la restriction envisagée. Le logiciel NEBCutter est utilisable en ligne. Pour cela, taper nebcutter dans un moteur de recherche.

5. Lancer la recherche pour le vecteur plasmidique pUC18.
6. Repérer la taille pUC18 en pb.
7. Proposer une définition pour l'expression « carte de restriction d'un ADN ».
8. Réaliser la restriction virtuelle du plasmide pUC 18 par l'enzyme Scal.
9. Déterminer la taille des produits de digestion.
10. Réaliser la digestion du phage lambda par Hind III. Déterminer la taille des produits de digestion.