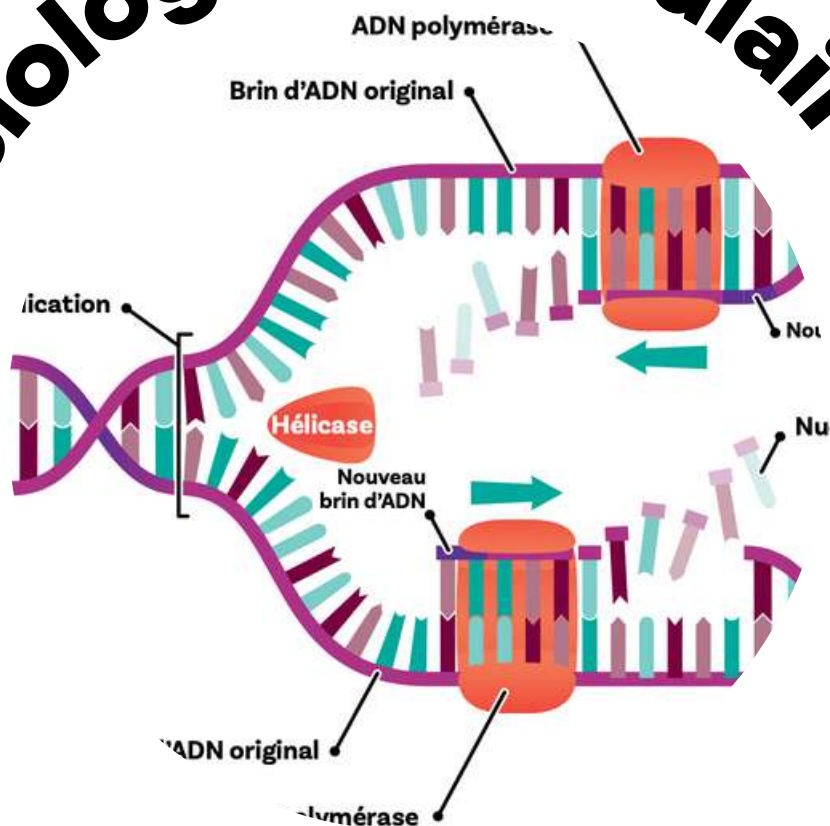


Biologie Moléculaire



SCIENCES DE LA VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter Biologie Maroc pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

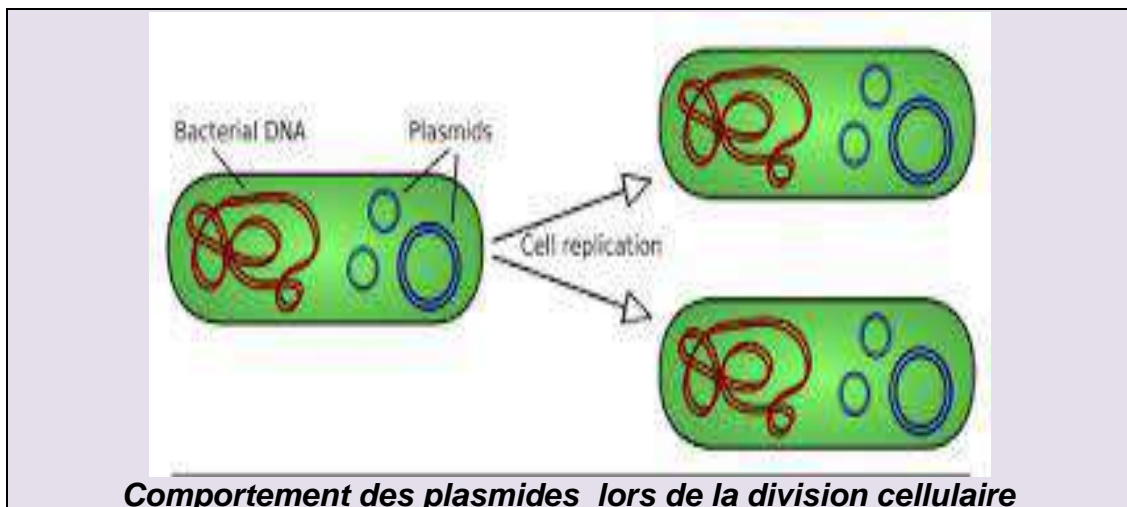
Plasmides et Vecteurs de clonage

1/ Caractéristiques des plasmides :

Les plasmides sont :

- des ADN extra chromosomiques circulaires (appelés également génomes extranucléaires)
- leur réplication est indépendante du chromosome bactérien.
- plusieurs copies peuvent exister dans une même bactérie (le nombre varie d'une copie à 20 de copies par cellule).
- la molécule est double brin, sa taille est très variable, elle varie de 1 kb à 200 ou 300 kb (à noter que la taille du chromosome d'*Escherichia coli* est de 3000 kb).
- les plasmides contiennent des gènes codant pour des protéines qui donnent un avantage pour la bactérie hôte. Il peut s'agir soit de la résistance à un ou plusieurs antibiotiques, soit de la production d'antibiotiques, soit de la production de toxines ou encore la résistance à des métaux lourds.
- leur présence dans la cellule est facultative.

1



Comportement des plasmides lors de la division cellulaire

2/ Structure des plasmides

Plasmides naturels

A l'état naturel, on reconnaît trois types de cas qui peuvent être définis comme étant des plasmides :

- le **facteur F** (responsable du phénomène de conjugaison chez les bactéries).
- les plasmides conférant la résistance aux antibiotiques.
- les plasmides codant pour des protéines appelées colicines qui tuent spécifiquement les colibacilles. Ces bactéries porteuses de ces plasmides à colicines synthétisent simultanément des protéines d'immunité à ces molécules ce qui les rend insensibles à leur effet.

A ces trois exemples précités, on peut ajouter le cas de *l'épisome*, défini comme étant une molécule d'ADN circulaire extrachromosomique, qui peut se répliquer de manière autonome comme un plasmide. Cependant *les épisomes* possèdent certains gènes supplémentaires encodant les enzymes de restriction qui permettent leur intégration au chromosome de la bactérie par recombinaison épisomale : ils ne font pourtant pas partie du génome bactérien.

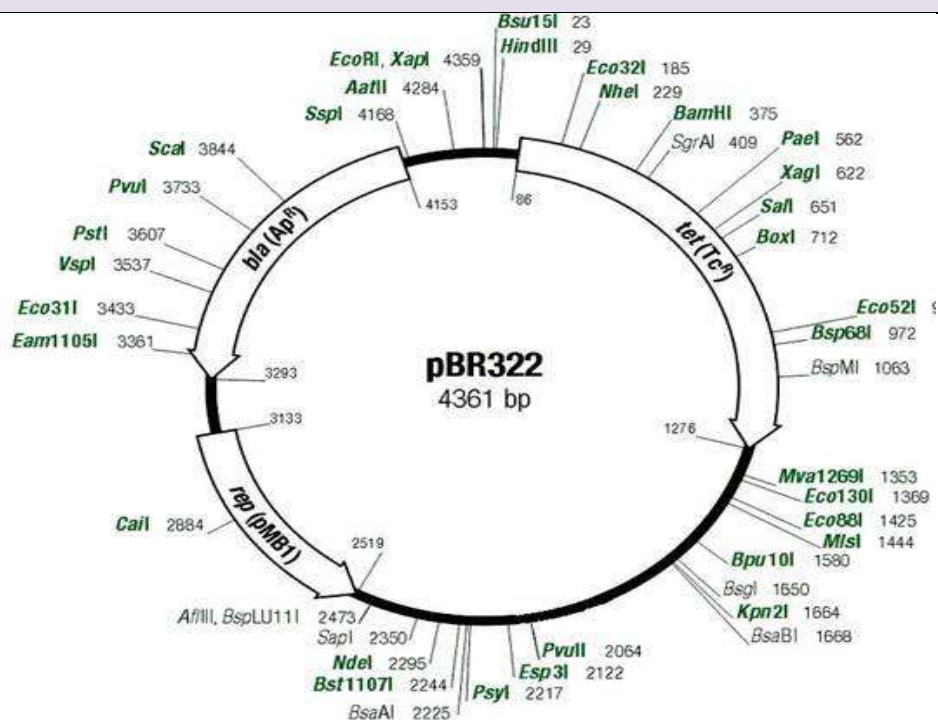
Plasmides construits

Pour être utilisés comme vecteurs en génie génétique, de nombreuses constructions plasmidiques ont été construites à partir des plasmides naturels dont la structure était profondément modifiée afin de faciliter les techniques de clonage et d'en améliorer le rendement.

Caractéristiques d'un vecteur plasmidique idéal :

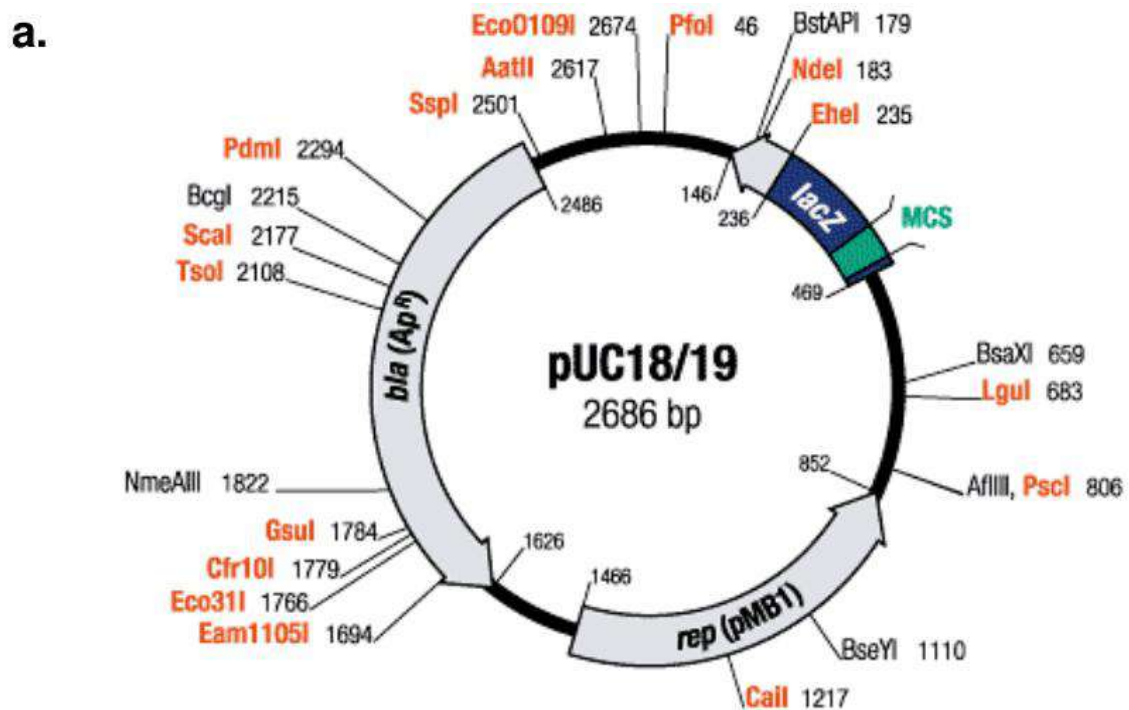
Le vecteur plasmidique idéal doit présenter les caractéristiques suivantes :

- il doit être de petite taille,
- il doit conférer à l'hôte des caractéristiques phénotypiques facilement sélectionnables (le plus souvent, il s'agit de vecteurs contenant un gène de résistance à un antibiotique),
- il doit contenir un certains nombres de sites de restriction uniques de clonage de préférence dans les gènes codant pour les caractères phénotypiques et en dehors de sa séquence « Ori »

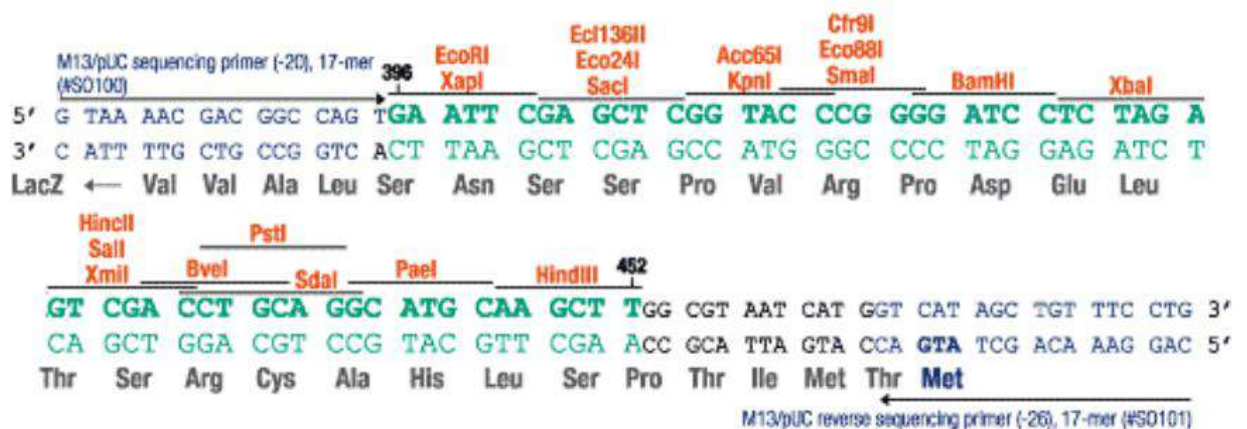


Représentation schématique du plasmide pBR322 et la disposition de vingt sites de restriction uniques qu'il comporte. Six d'entre eux (*EcoRV*, *BamHI*, *SphI*, *SalI*, *XmaIII* et *NruI*) sont situés au niveau du gène de résistance à la tétracycline, deux (*ClaI* et *Hind III*) au niveau du promoteur de ce gène, et trois (*PstI*, *PvuI* et *ScaI*) au niveau du gène de résistance à l'ampicilline

Représentation schématique détaillée du plasmide pUC18/19 (Plasmide construit).



b. Multiple cloning sites of pUC19



MCS (Multiple Cloning Sites): Site multiple de clonage de fragments d'ADN étrangers (inserts) au niveau du gène LacZ. A noter que les sites de restriction sont uniques au niveau du MCS.
La taille du plasmide est de 2686 pb (paires de bases)
Présence d'un gène de résistance à l'Ampicilline.

Etapes de clonage d'un insert (gène ou fragment d'ADN) au niveau d'un vecteur plasmidique.

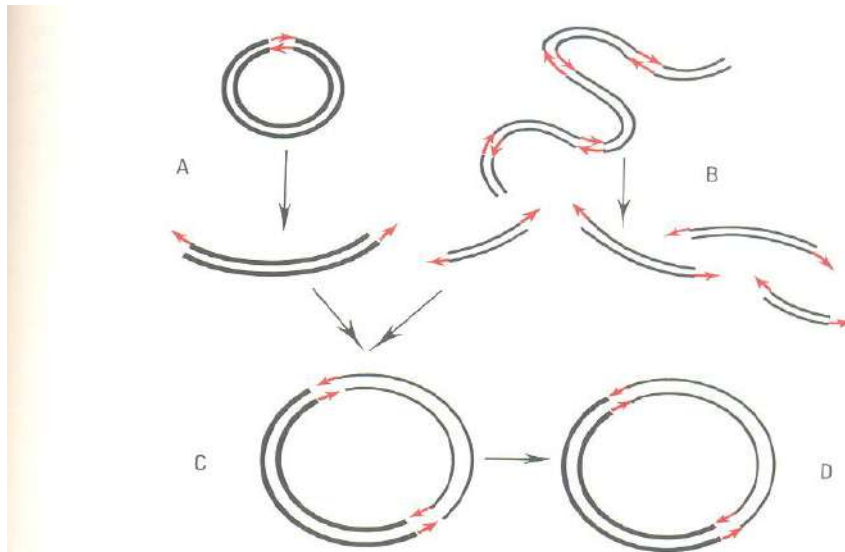


FIG. 12-10. — Association d'ADN à un vecteur.

A — Le plasmide vecteur est linéarisé à la suite de la coupure par un enzyme de restriction spécifique (le site de restriction est symbolisé en rouge).
B — L'ADN à cloner est coupé par le même enzyme de restriction en de nombreux fragments.
C — Le vecteur et les fragments d'ADN s'associent par l'intermédiaire de bouts collants.
D — La continuité des brins est rétablie grâce à l'action d'une polynucléotide ligase.

Etapes de Construction d'un plasmide mixte (Recombinant).

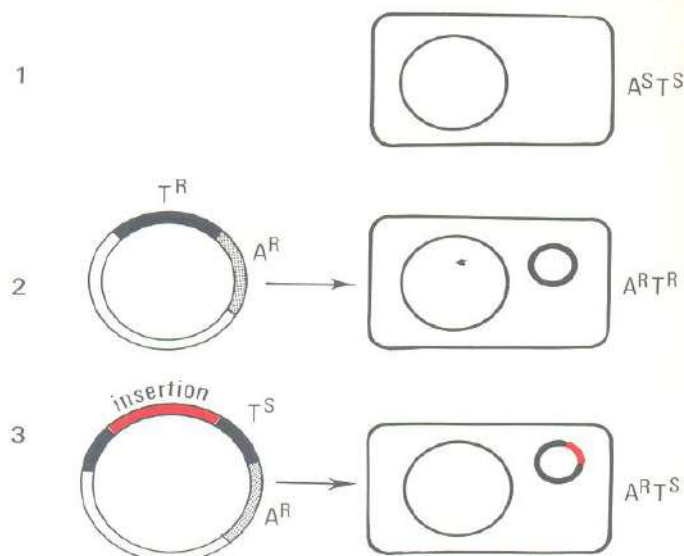


FIG. 12-11. — Sélection d'un clone cellulaire contenant un plasmide mixte. Le plasmide porte deux gènes de résistance à A et à T. Le site de restriction est situé dans le gène T. 1 — la cellule réceptrice $A^R T^R$ n'a pas reçu de plasmide. 2, 3 — les cellules ont reçu un plasmide (A^R); en 2 les cellules sont aussi T^R : le plasmide n'a pas inséré l'ADN étranger; en 3 les cellules sont T^S : le plasmide a inséré un morceau d'ADN étranger.

Autres exemples de vecteurs : Les vecteurs phagiques EMBL

Les vecteurs de la série EMBL* (on distingue EMBL1, EMBL2, EMBL3 et EMBL4) font parti des phages λ de remplacement, qui possèdent la capacité d'insertion proche de 23 Kb. Le vecteur phagique EMBL est constitué de deux bras, un bras gauche et un bras droit au milieu desquels on peut insérer les fragments d'ADN étrangers. Pour EMBL3 et EMBL4, le site de clonage le plus utilisé est le site BamHI.

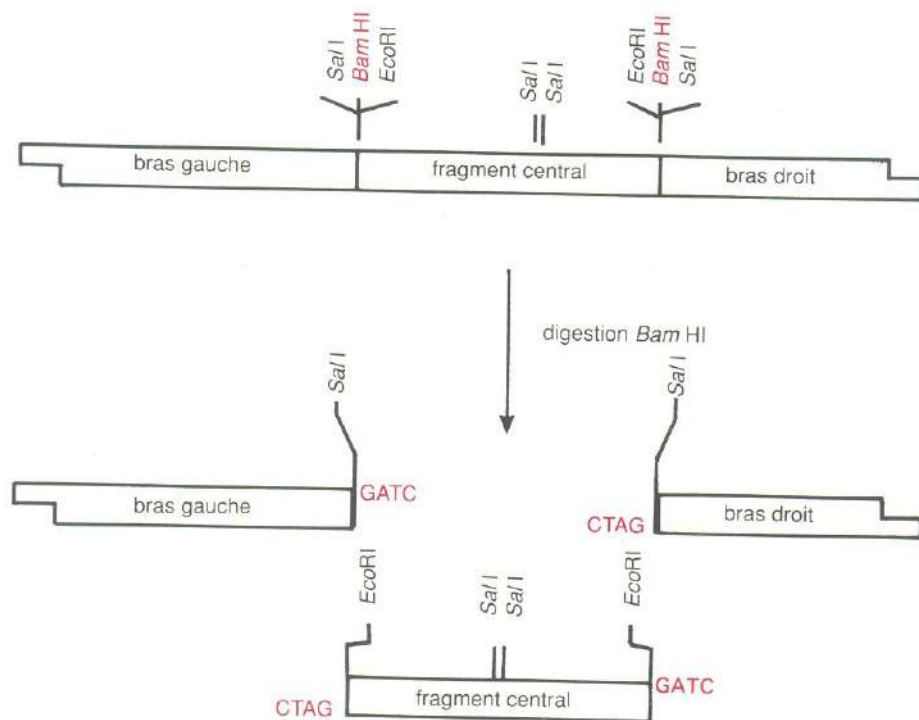
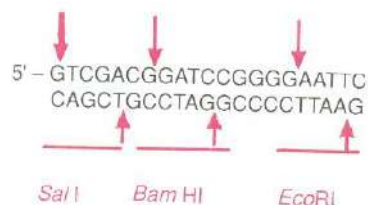


Figure du vecteur EMBL3 après digestion par BamHI



Fragment de clonage multiple en position 5' du segment central du phage EMBL3.

*: EMBL (European Molecular Biology Laboratory) est une structure internationale de recherche composée de 24 pays ayant pour vocation le développement de recherches en biologie structurale

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

