

# BIOCHIMIE

## Les Acides Nucléiques

Hubert Becker  
IPCB, UMR7156 4<sup>ème</sup> étage

<http://gmgm.unistra.fr/index.php?id=3634>

# Plan

## **I. Introduction**

## **II. 1<sup>er</sup> Niveau: Les Unités Monomériques des Acides Nucléiques**

**II.1. Composition et Structure des Nucléosides et Nucléotides**

**II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides**

## **III. 2<sup>ème</sup> Niveau: Les Macromolécules d'Acides Nucléiques**

**III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques**

**III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques**

## **IV. 3<sup>ème</sup> Niveau: Les Complexes supramoléculaires (Structure IV<sup>aire</sup>)**

**IV.1. Structures quaternaires de l'ADN**

## **V. Manipulation des acides nucléiques**

**V.1. Couper l'ADN**

**V.2. Couper l'ARN**

**V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques**

**V.4. fractionner les acides nucléiques**

## **VI. Les gènes et le clonage**

**VI.1 Les gènes chez les procaryotes**

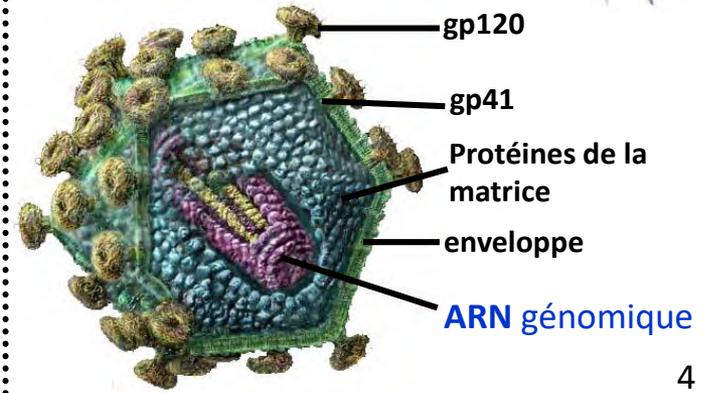
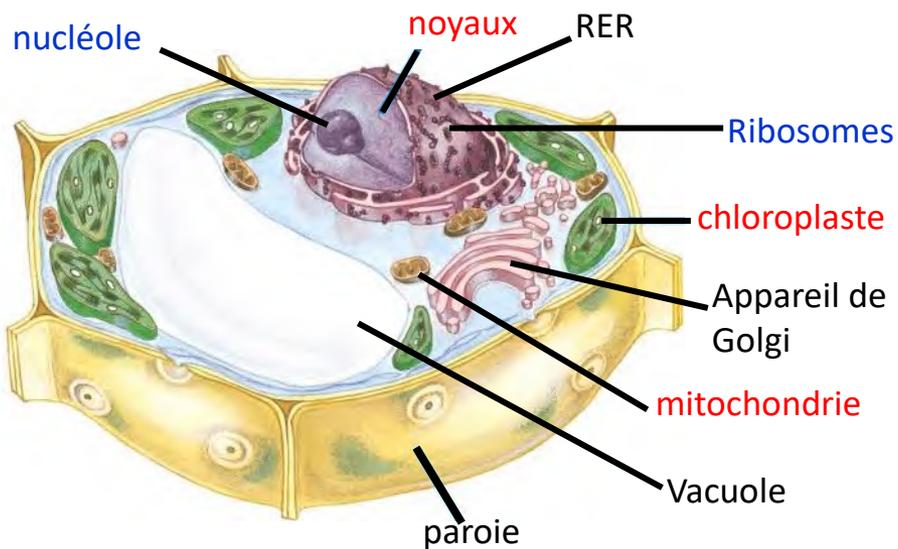
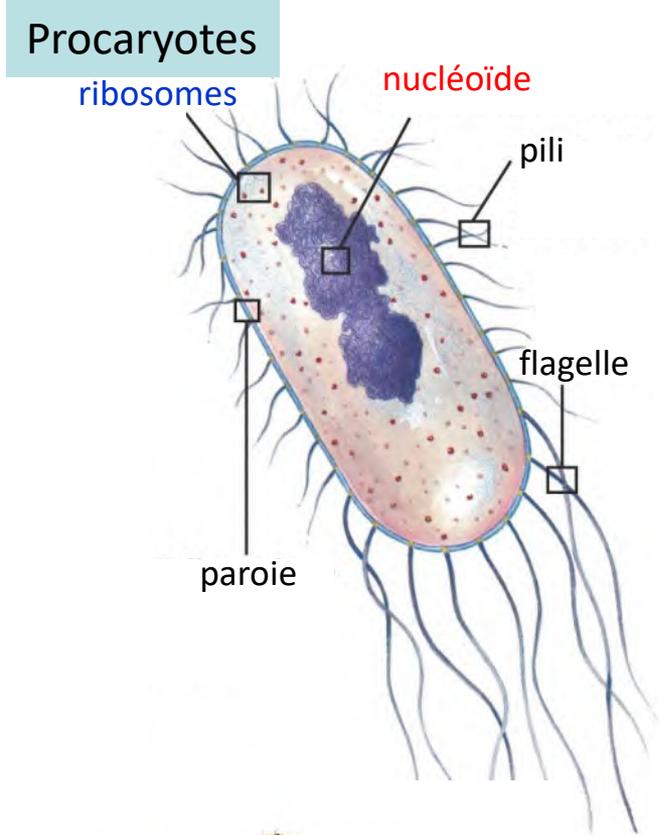
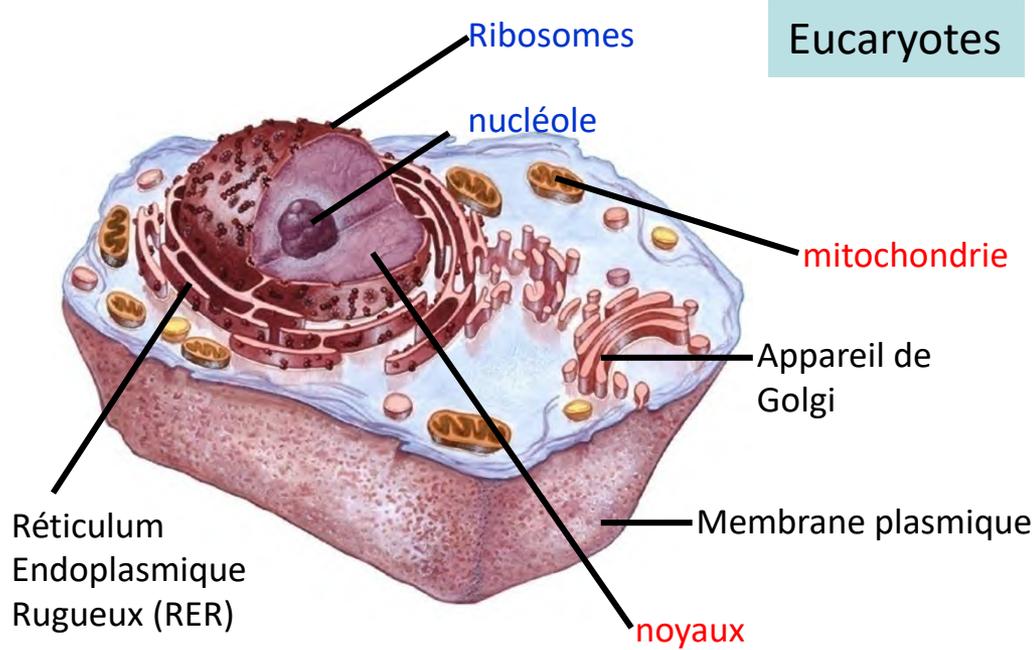
**VI.2. Les gènes chez les eucaryotes**

**VI.3. Le clonage**

# I. Introduction

- I.1. Où trouve-t-on des acides nucléiques dans les cellules ?
- I.2. Les différents types d'acides nucléiques.
- I.3. Que représentent les acides nucléiques dans une cellule ?
- I.4. Comparaison de la taille des génomes.
- I.5. Les niveaux d'organisation des acides nucléiques.

# I.1. Où trouve-t-on des acides nucléiques dans les cellules ?



## I.2. Les différents types d'acides nucléiques

---

Types	Chez Qui?
ADN Génomique	Tous sauf certains virus
ADN Plasmidique	Bactéries
ARN Génomique	Virus
ARNr (Ribosomique)	Tous sauf Virus
ARNt (de Transfert)	Tous
SnARN (épissage)	Eucaryotes
SnoARN (Méthylation)	Eucaryotes
SiARN (défense anti-virale)	Eucaryotes
MiARN (Régulation de l'expression de gènes)	Eucaryotes
Ribonucléase P (Maturation des ARNt)	Tous sauf virus

---

### I.3. Que représentent les acides nucléiques dans une cellule ?

**TABLE 1-2** Molecular Components of an *E. coli* Cell

	<i>Percentage of total weight of cell</i>	<i>Approximate number of different molecular species</i>
Water	70	1
Proteins	15	3,000
Nucleic acids		
DNA	1	1
RNA	6	>3,000
Polysaccharides	3	5
Lipids	2	20
Monomeric subunits and intermediates	2	500
Inorganic ions	1	20

## I.4. Comparaison de la taille des génomes

**TABLE 1-4** Some Organisms Whose Genomes Have Been Completely Sequenced

<i>Organism</i>	<i>Genome size (millions of nucleotide pairs)</i>	<i>Biological interest</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0.8	Causes pneumonia
<i>Treponema pallidum</i>	1.1	Causes syphilis
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1.3	Causes Lyme disease
<i>Helicobacter pylori</i>	1.7	Causes gastric ulcers
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.7	Grows at 85 °C!
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8	Causes bacterial influenza
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	1.8	Member of the Archaea
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.2	High-temperature methanogen
<i>Synechocystis</i> sp.	3.6	Cyanobacterium
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2	Common soil bacterium
<i>Escherichia coli</i>	4.6	Some strains cause toxic shock syndrome
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.1	Unicellular eukaryote
<i>Plasmodium falciparum</i>	23	Causes human malaria
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97.1	Multicellular roundworm
<i>Anopheles gambiae</i>	278	Malaria vector
<i>Mus musculus domesticus</i>	$2.5 \times 10^3$	Laboratory mouse
<i>Homo sapiens</i>	$2.9 \times 10^3$	Human

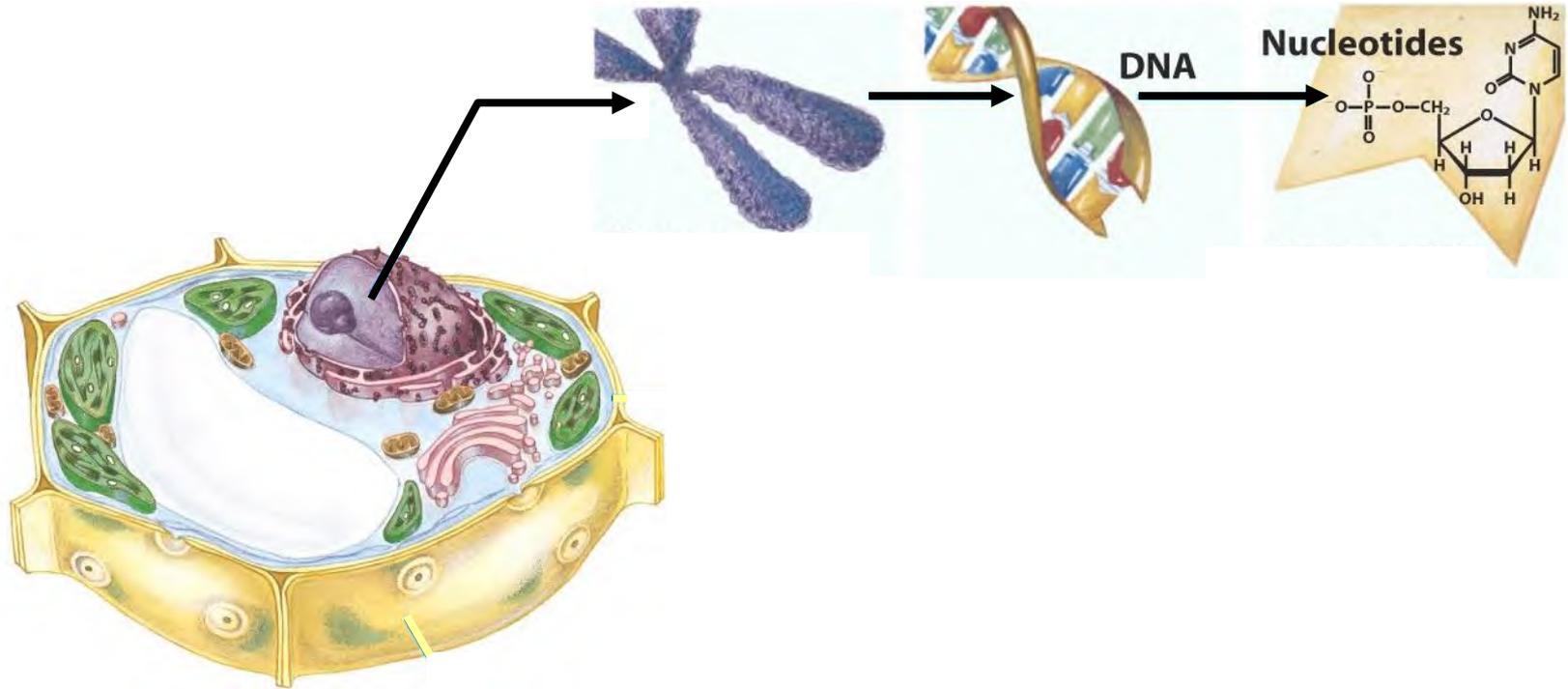
## I.4. Les niveaux d'organisation des acides nucléiques

Niveau 4:  
La cellule et  
ses organites

Niveau 3:  
Les complexes  
supramoléculaires

Niveau 2:  
Les macromolécules

Niveau 1:  
Les unités  
monomériques



## II. 1<sup>er</sup> Niveau: les unités monomériques des acides nucléiques

### II.1. Composition et Structure des Nucléosides et Nucléotides

II.1.a. Le  $\beta$ -D-Ribose et le 2-Désoxy- $\beta$ -D-Ribose

II.1.b. Les bases azotées

II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides

II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

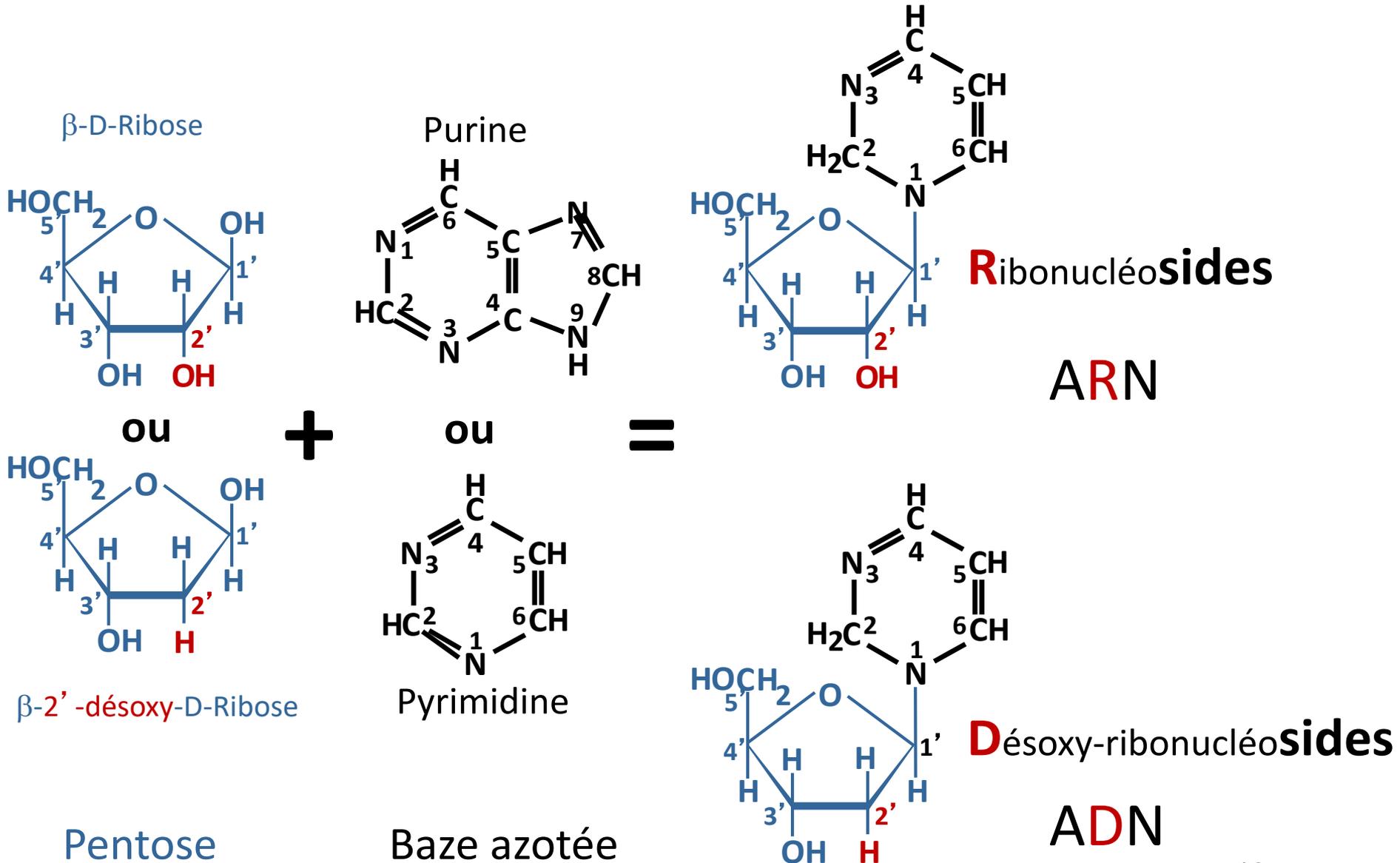
II.1.e. Les groupements que l'on rencontre dans les ANiques

### II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

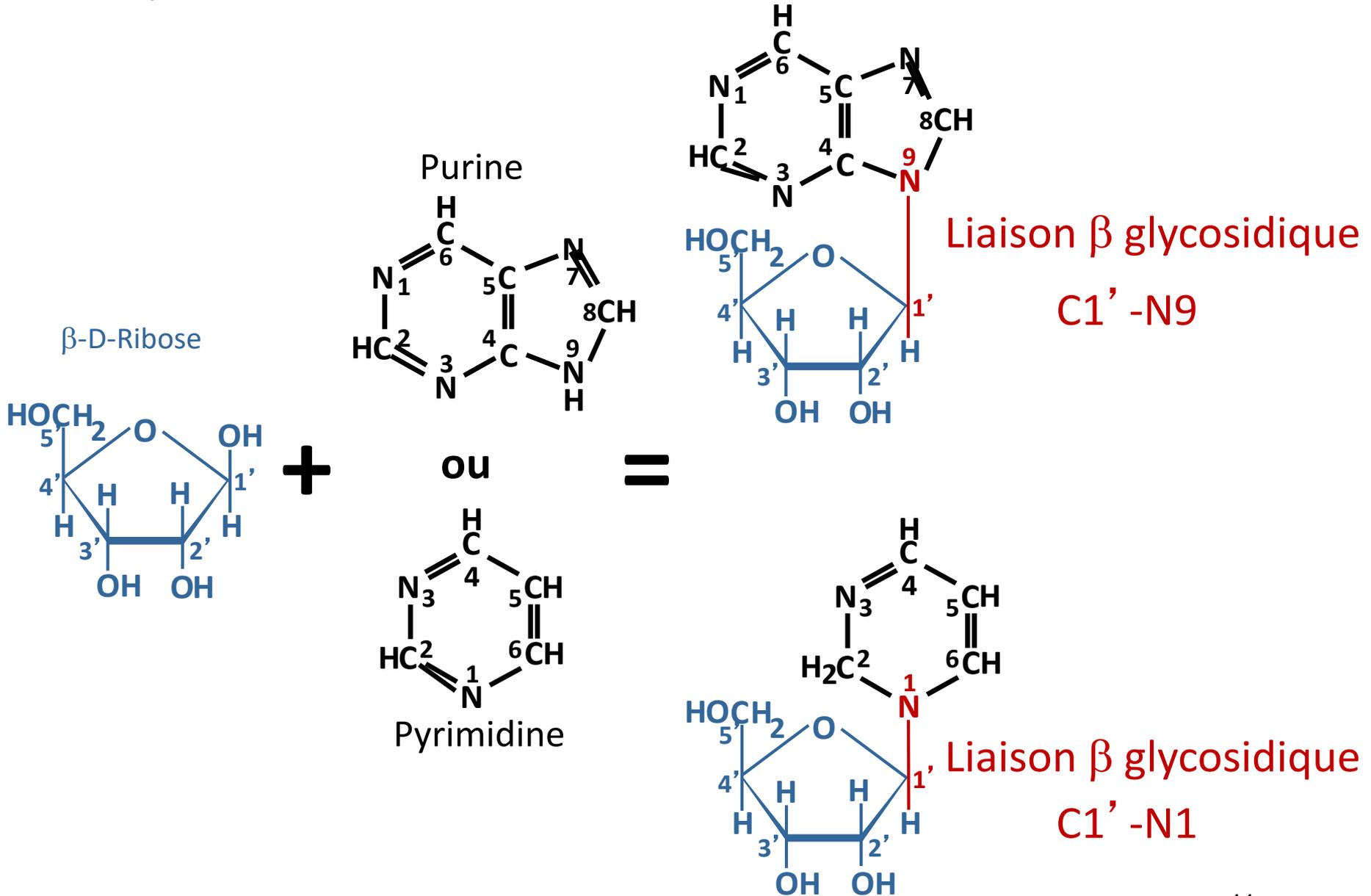
II.2.a. Propriétés spectroscopiques

II.2.b. Source d'énergie

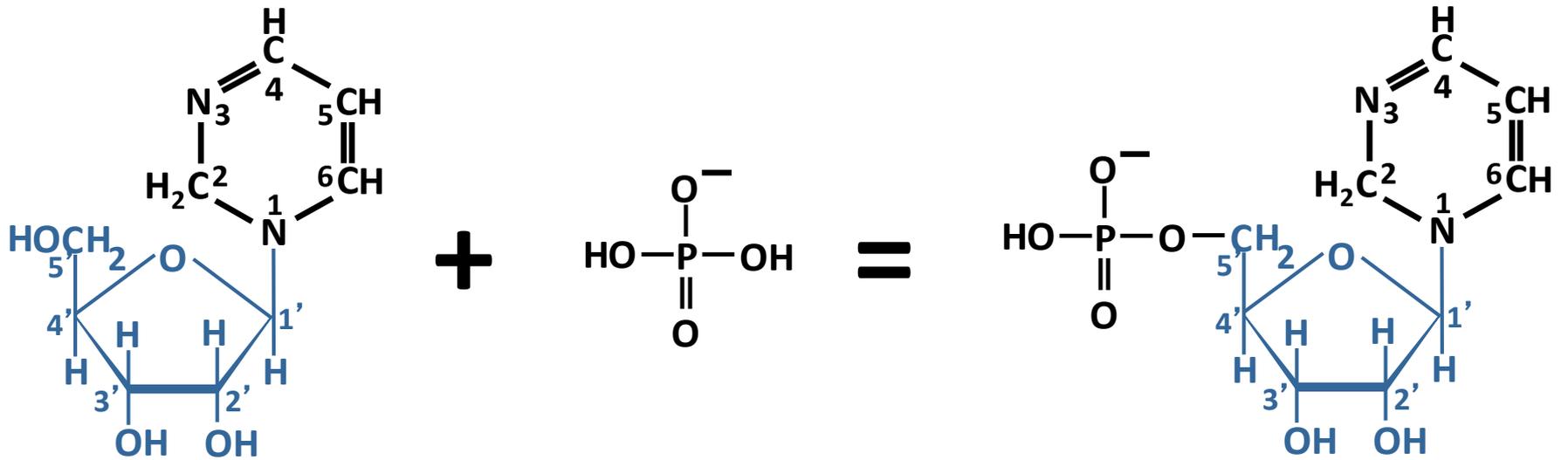
## II.1. Composition et Structure des Nucléosides



## II.1. Composition et Structure des Nucléosides



## II.1. Composition et Structure des Nucléotides

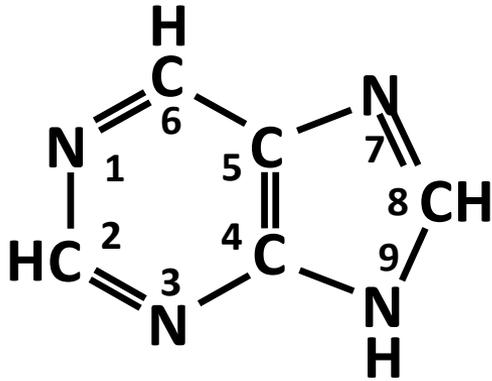


Nucléo**S**ide  
Deux molécules (2<sup>nd</sup>)

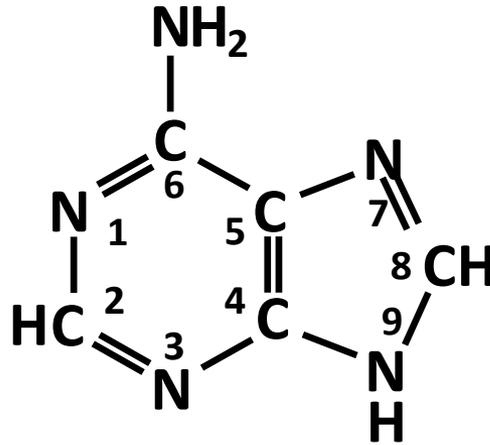
Acide phosphorique  
(phosphate)

Nucléo**t**ide  
Trois molécules (2<sup>nd</sup>)

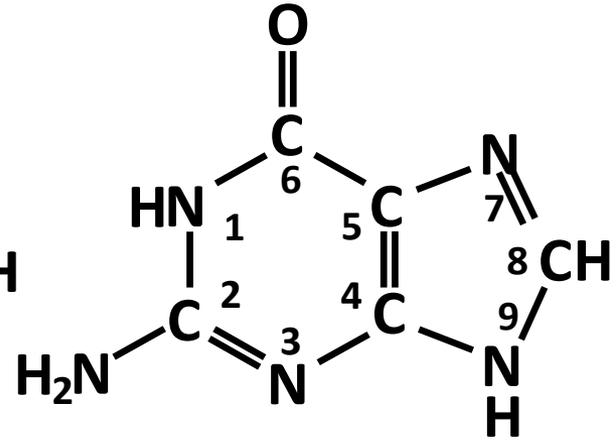
## II.1.b. Les bases azotées



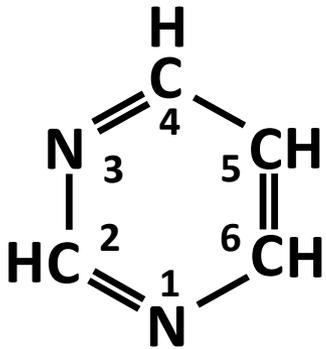
Purine



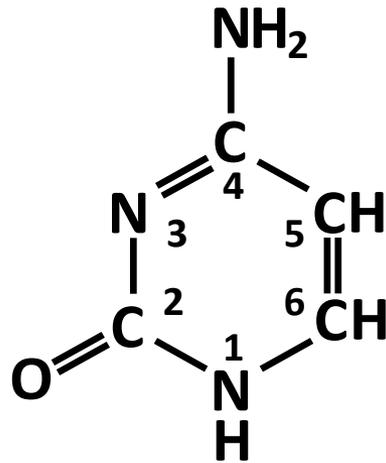
Adénine



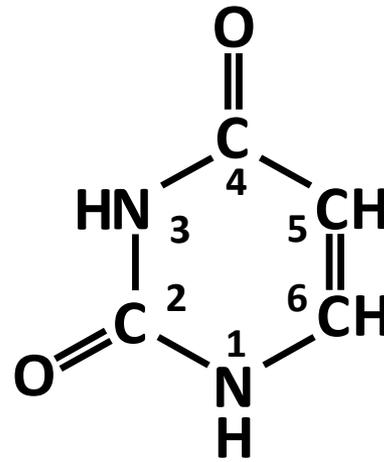
Guanine



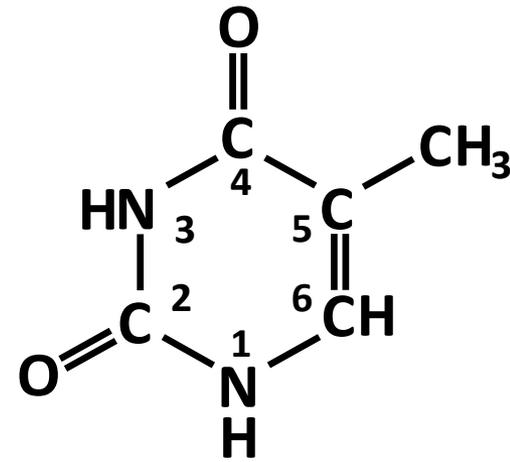
Pyrimidine



Cytosine



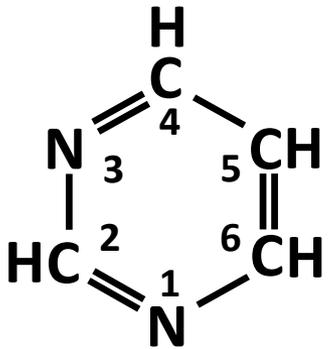
Uracile



Thymine  
(5-méthyl-uracile)<sup>13</sup>

## II.1.b. Les bases azotées

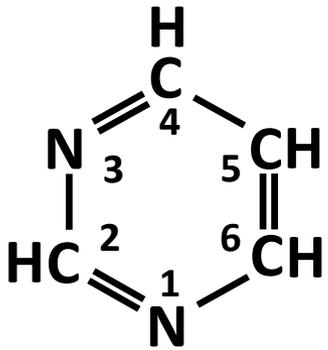
- Le cycle pyrimidique est un hexagone



**Pyrimidine**

## II.1.b. Les bases azotées

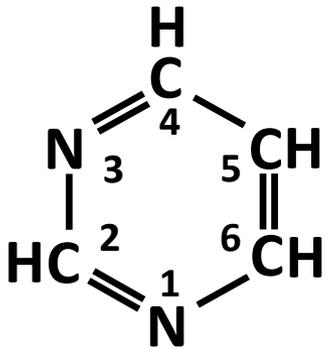
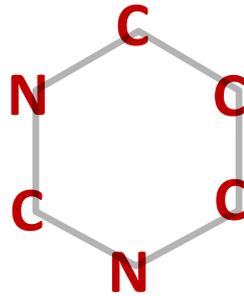
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte



Pyrimidine

## II.1.b. Les bases azotées

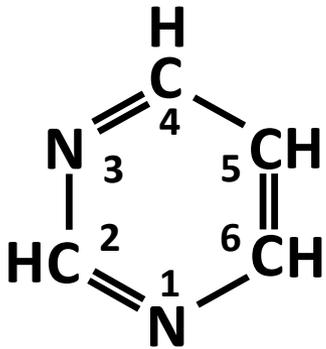
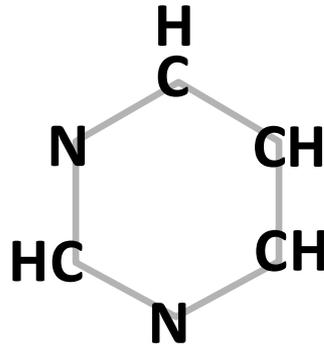
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte



**Pyrimidine**

## II.1.b. Les bases azotées

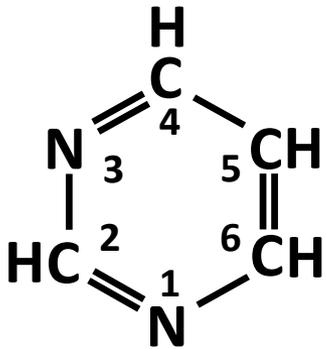
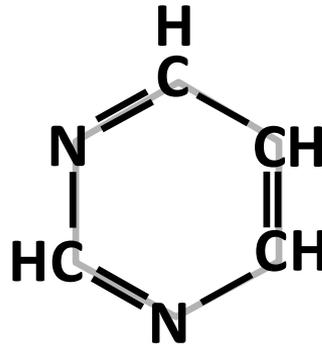
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH



**Pyrimidine**

## II.1.b. Les bases azotées

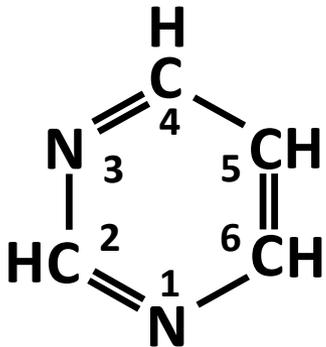
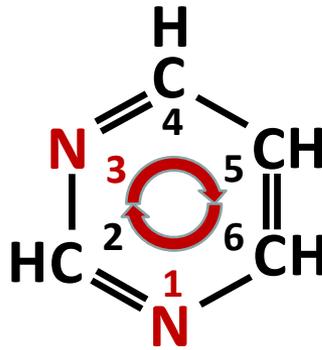
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH
- L'azote est trivalent, le carbone tétra



**Pyrimidine**

## II.1.b. Les bases azotées

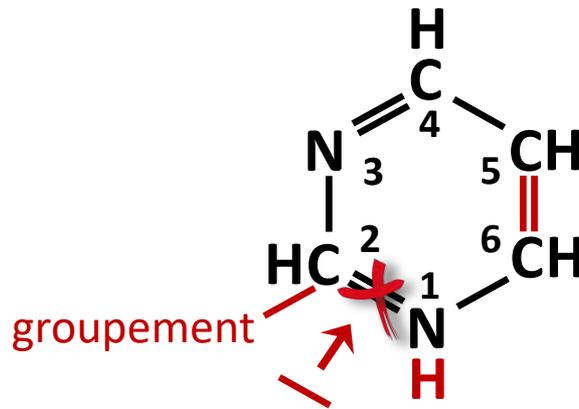
- Le cycle pyrimidique est un hexagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Les azotes sont imino (N) et les carbones CH
- L'azote est trivalent, le carbone tétra
- On numérote à partir du bas, dans le sens des aiguilles d'une montre – N1,N3



**Pyrimidine**

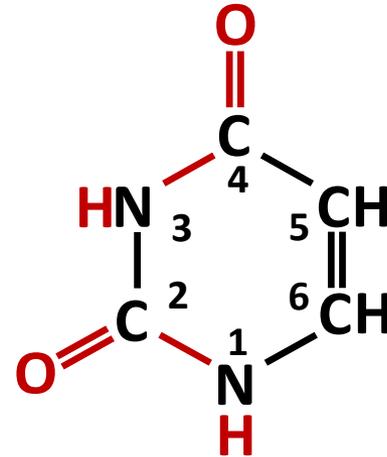
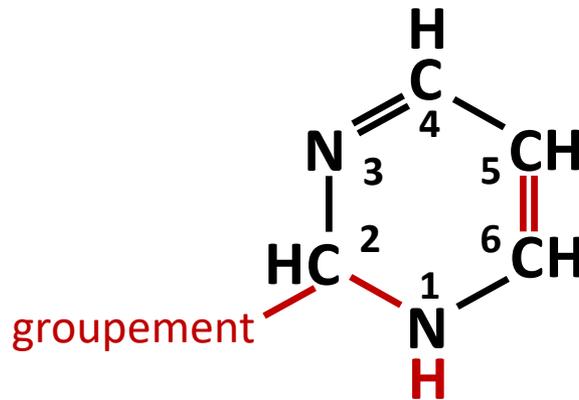
## II.1.b. Les bases azotées

- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison  $\beta$ -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison  $C_5=C_6$



## II.1.b. Les bases azotées

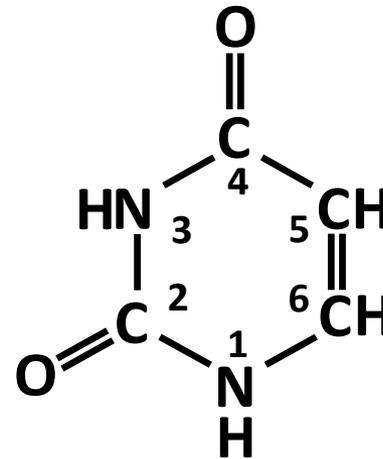
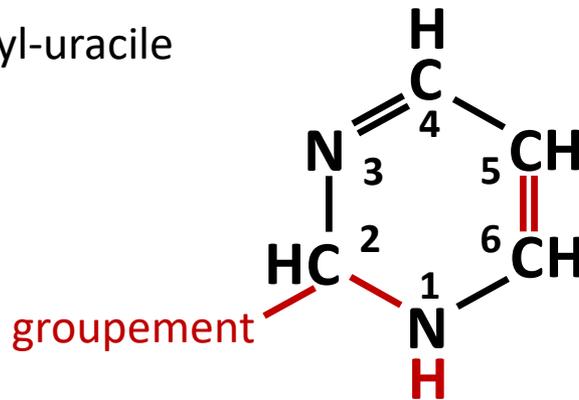
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison  $\beta$ -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison  $C_5=C_6$
- L'Uracile est le plus simple: 2 carbonyles (2 et 4), carbone tétravalent, donc double liaison 3=4 saute



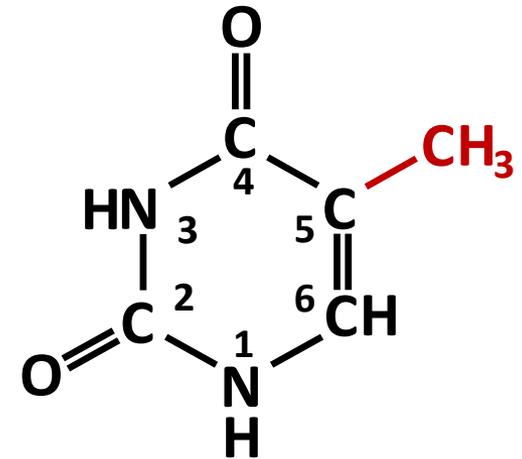
Uracile

## II.1.b. Les bases azotées

- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison  $\beta$ -glycosidique
- On ne touche jamais la double liaison  $C_5=C_6$
- L'Uracile est le plus simple: 2 carbonyles (2 et 4), carbone tétravalent, donc double liaison 3=4 saute
- Thymine = 5-méthyl-uracile



Uracile

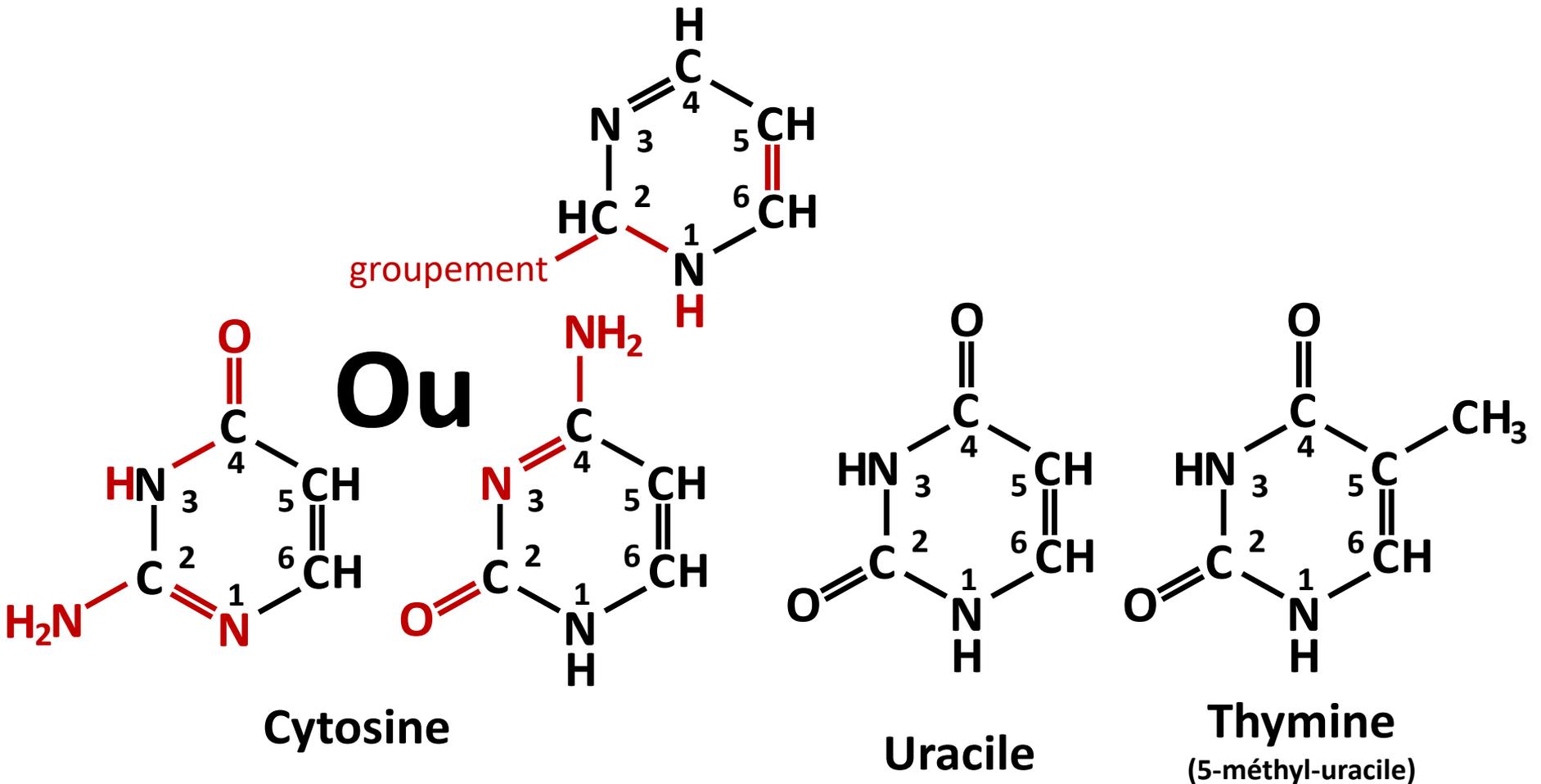


Thymine

(5-méthyl-uracile)

## II.1.b. Les bases azotées

- Pour la cytosine, 1 carbonyle et 1 amino, donc 2 possibilités: carbonyle 2, amino 4 ou vice-versa

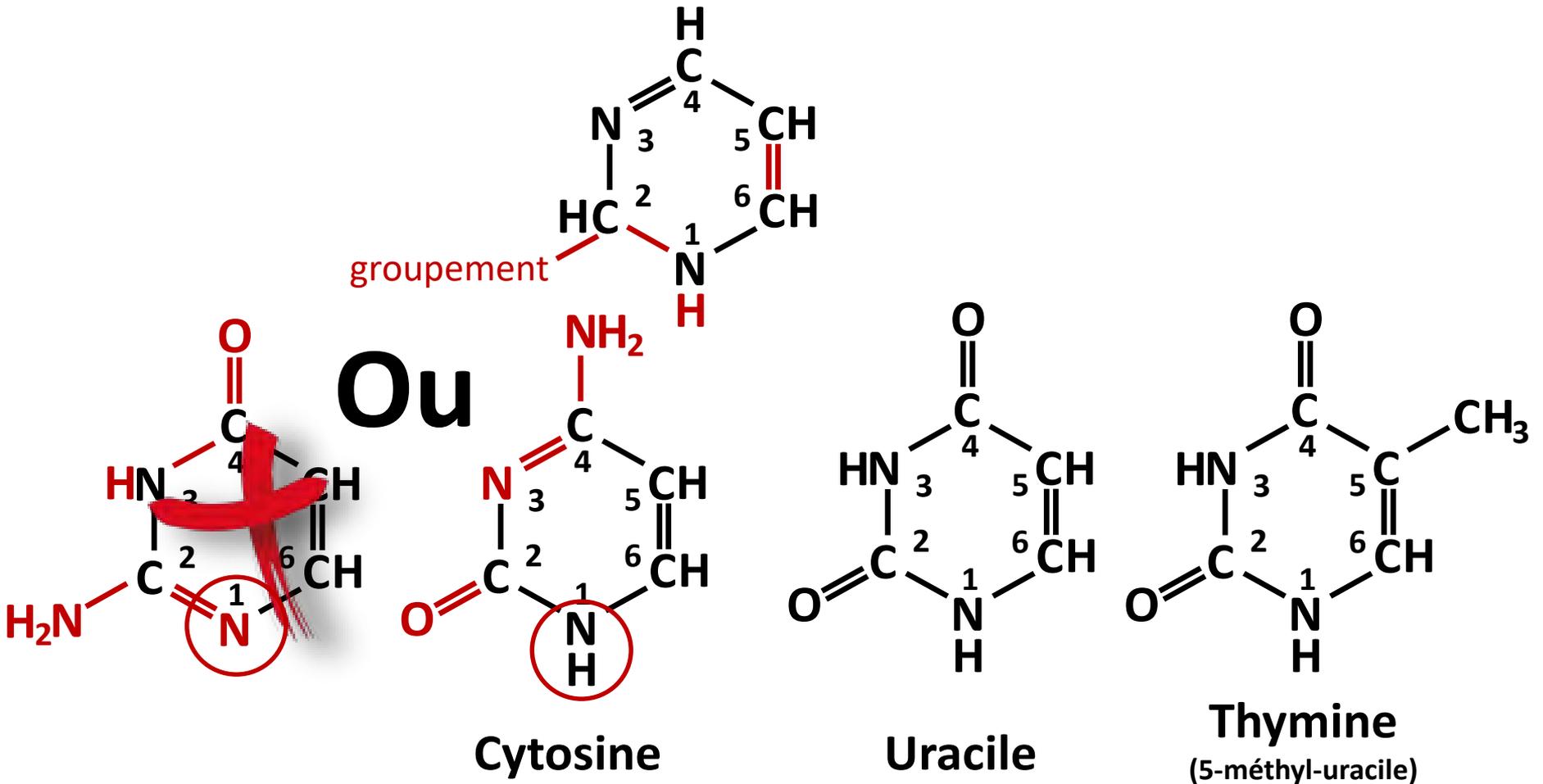


## II.1.b. Les bases azotées

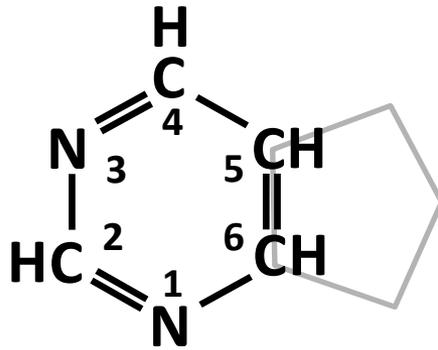
- Pour la cytosine, 1 carbonyle et 1 amino, donc 2 possibilités: carbonyle 2, amino 4 ou vice-versa

**Or**

- Le N1 doit être amino pour pouvoir faire la liaison  $\beta$ -glycosidique

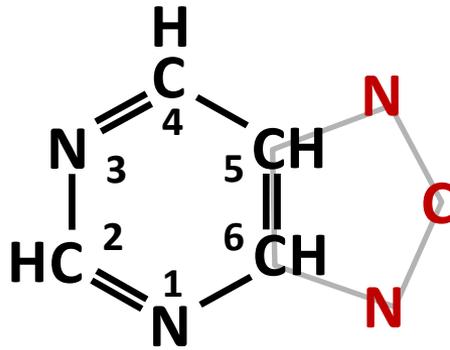


## II.1.b. Les bases azotées



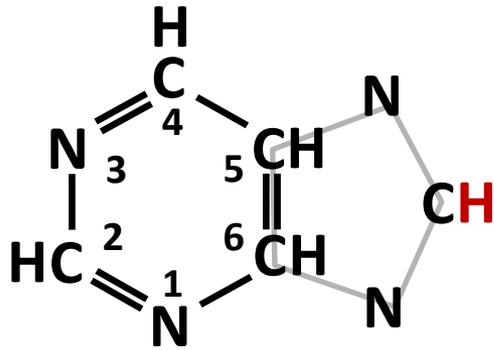
- Pour la purine, on rajoute un pentagone

## II.1.b. Les bases azotées



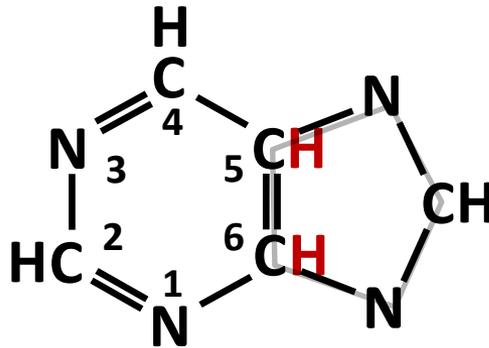
- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte

## II.1.b. Les bases azotées



- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH

## II.1.b. Les bases azotées



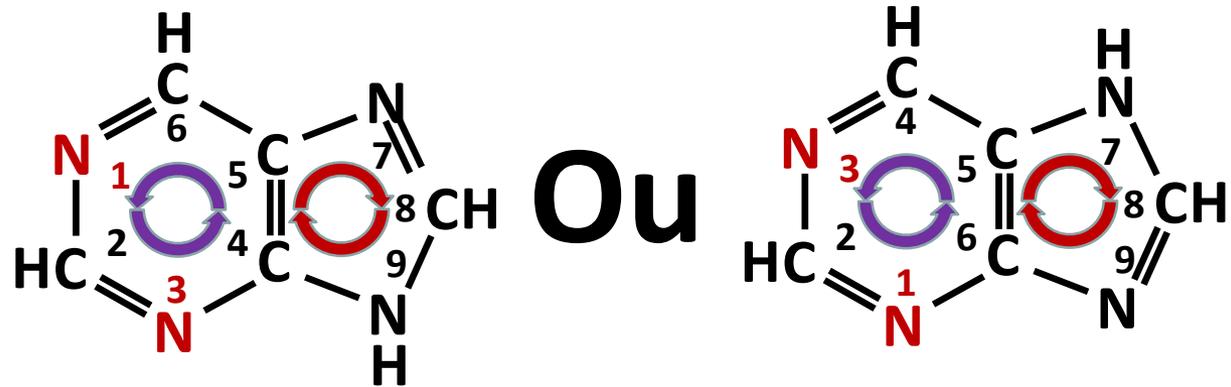
- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent

## II.1.b. Les bases azotées



- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

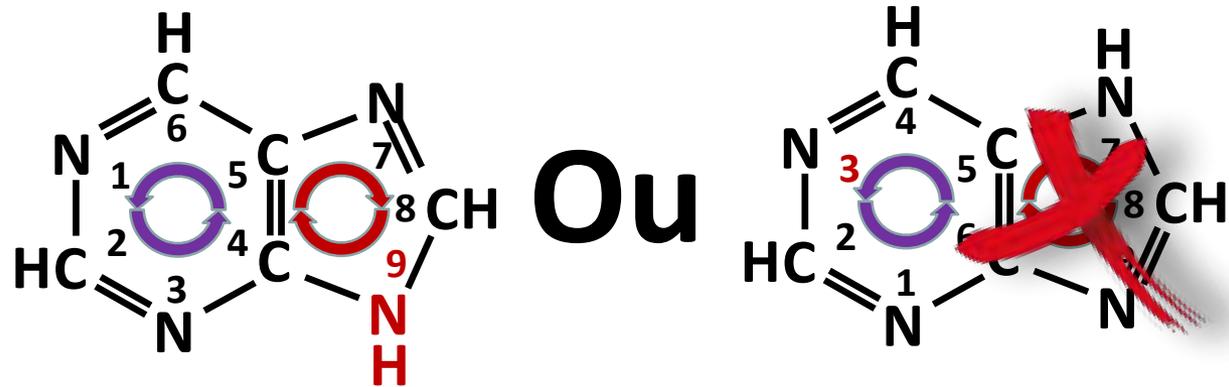
## II.1.b. Les bases azotées



- On change le sens de la numérotation: sens inverse des aiguilles d'une montre dans l'hexagone et on commence par l'autre azote et on recharge de sens dans le pentagone **MAIS ON GARDE N<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>**

- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

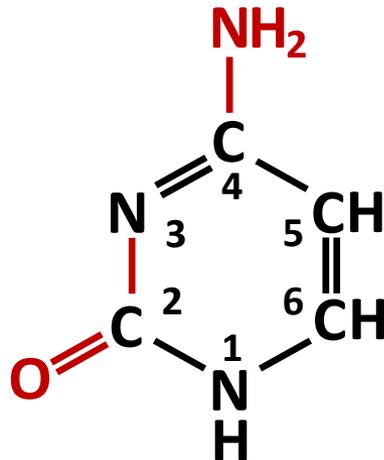
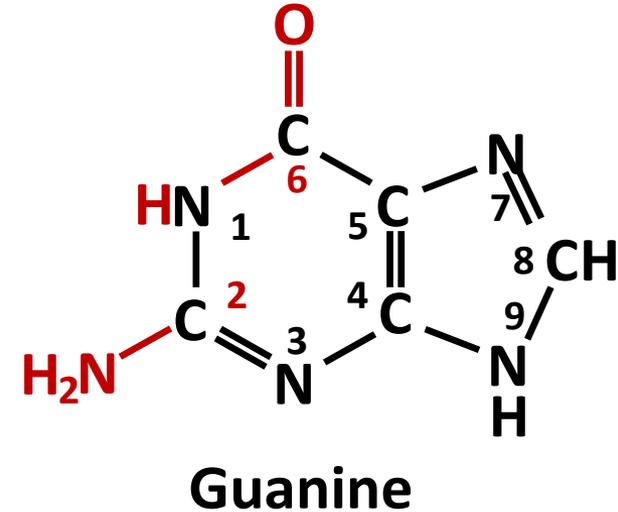
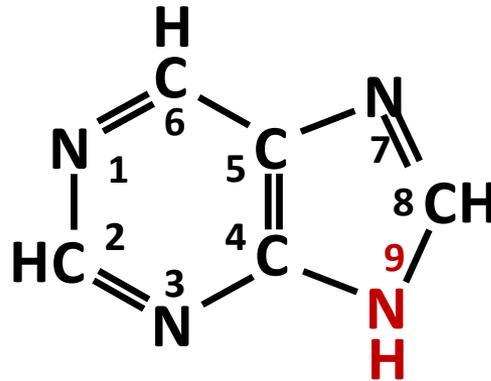
## II.1.b. Les bases azotées



- On change le sens de la numérotation: sens inverse des aiguilles d'une montre dans l'hexagone et on commence par l'autre azote et on recharge de sens dans le pentagone **MAIS ON GARDE**  $N_1, N_3$
- L'amine du pentagone est en 9 et c'est l'azote qui fait la liaison  $\beta$ -glycosidique

- Pour la purine, on rajoute un pentagone
- Les 2 azotes ne sont pas côte à côte
- Le carbone est CH
- Le carbone est tétravalent
- Le carbone est toujours tétravalent et l'azote trivalent donc 2 possibilités

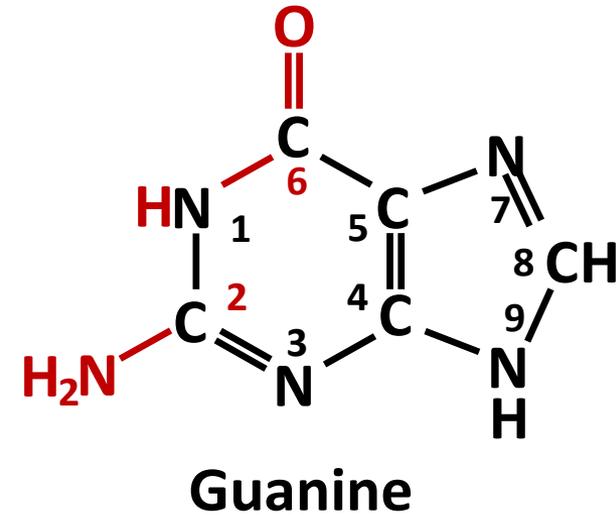
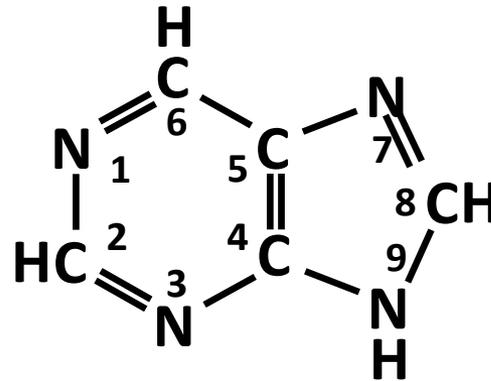
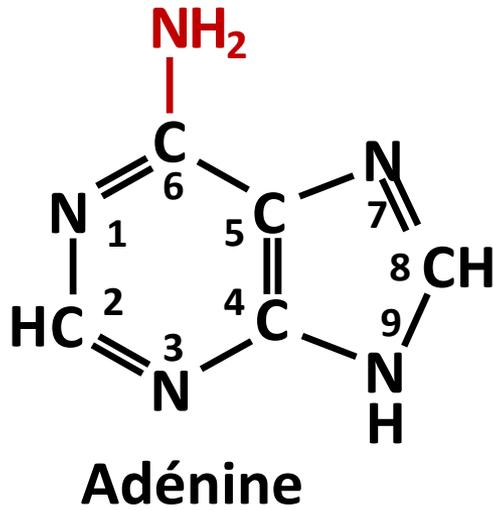
## II.1.b. Les bases azotées



Cytosine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

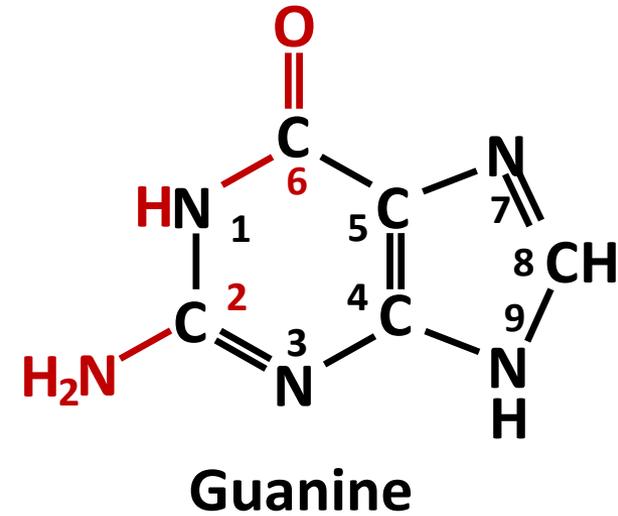
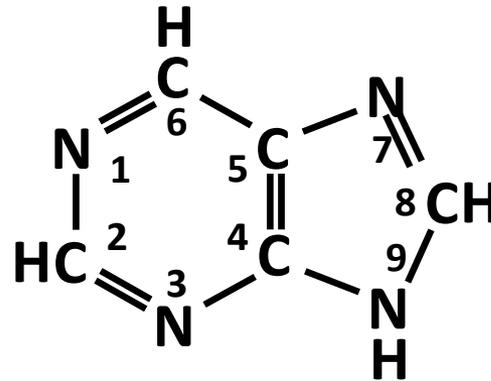
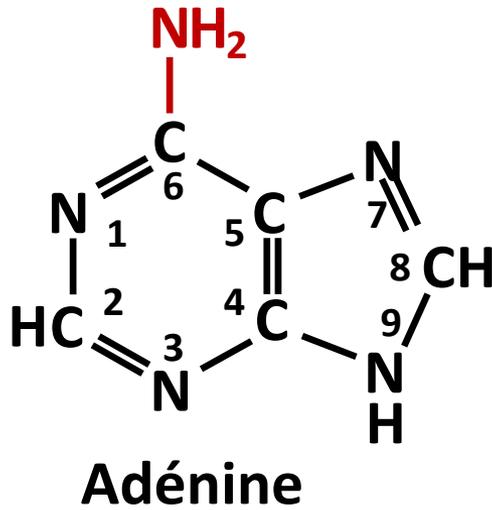
## II.1.b. Les bases azotées



- L' adénine, une seule substitution: NH<sub>2</sub> et pas dans la même position que la guanine ou 6-amino-purine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

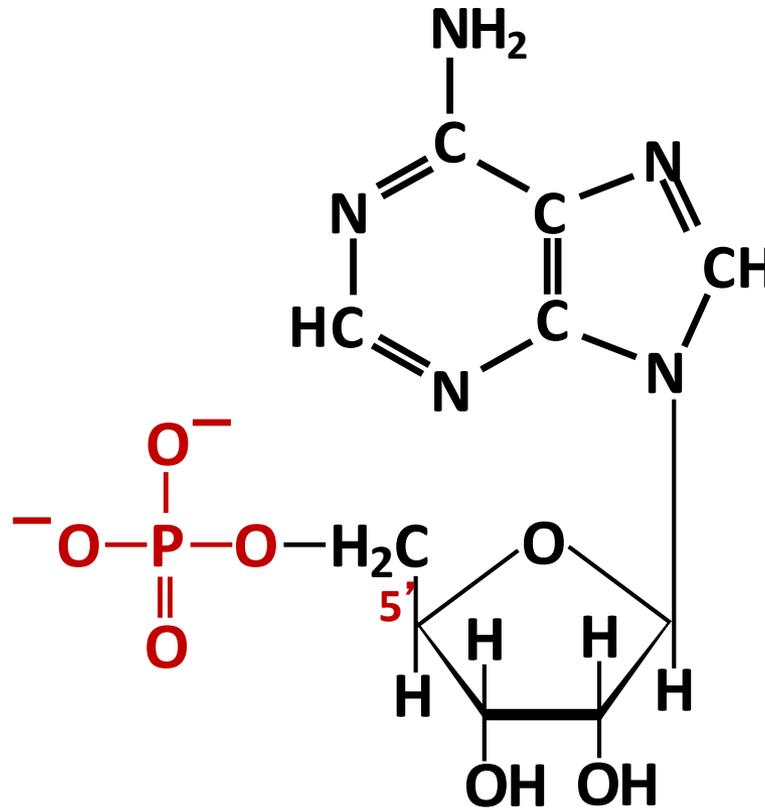
## II.1.b. Les bases azotées



- L' adénine, une seule substitution: NH<sub>2</sub> et pas dans la même position que la guanine ou 6-amino-purine

- A l' inverse de la pyrimidine l' N qui fait la liaison glycosidique est déjà amine car on ne substitue pas le cycle imidazole (pentagone)
- Les groupements substitués = carbonyle et amino
- La guanine s' apparie à la cytosine et c' est les substitutions inverse de la cytosine

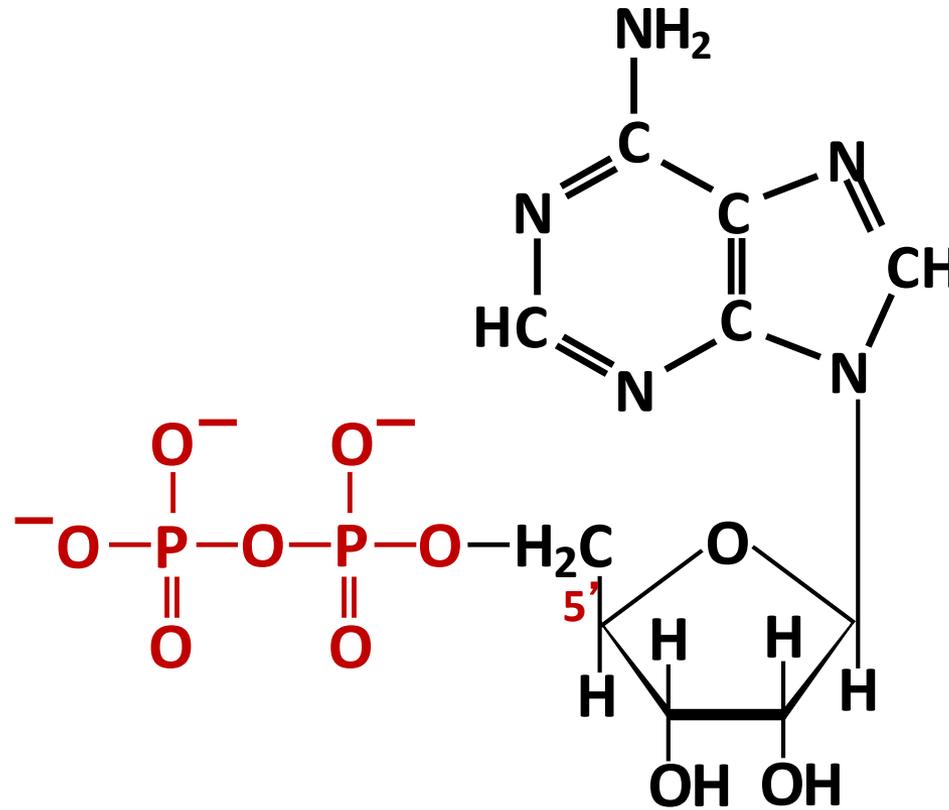
## II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -**mon**ophosphate



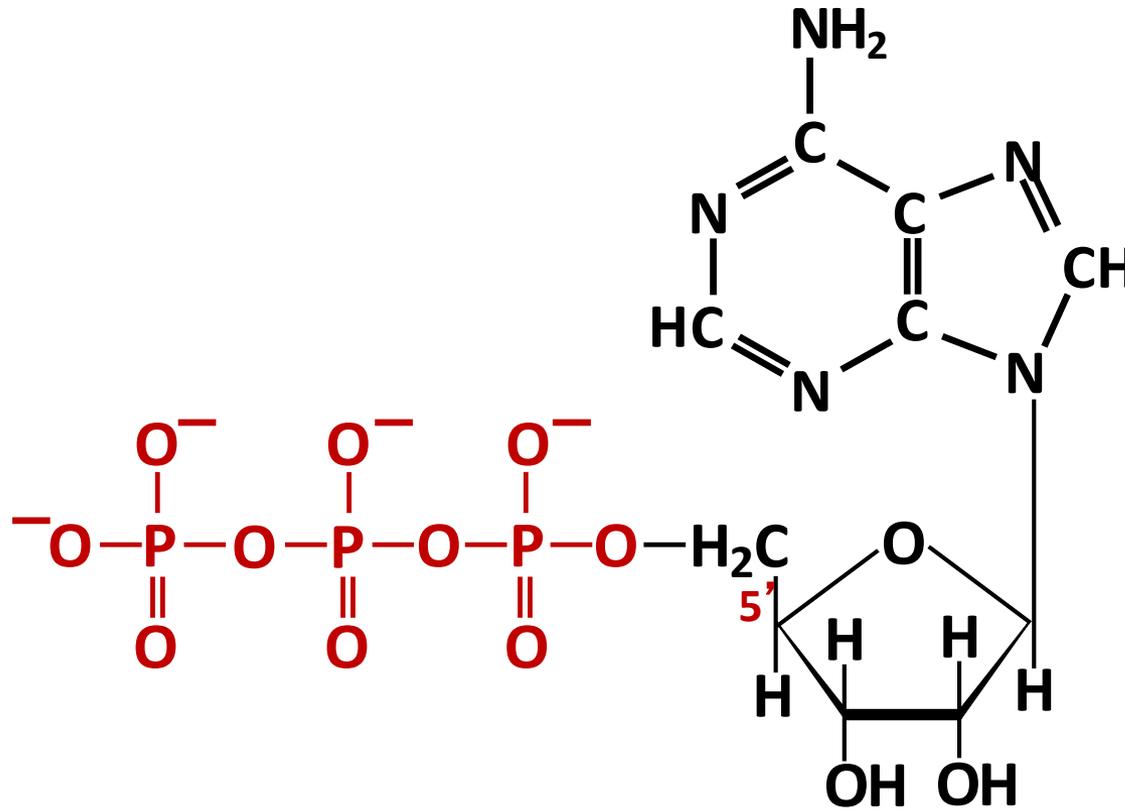
## II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -diphosphate



## II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides



Adénosine-5' -triphosphate



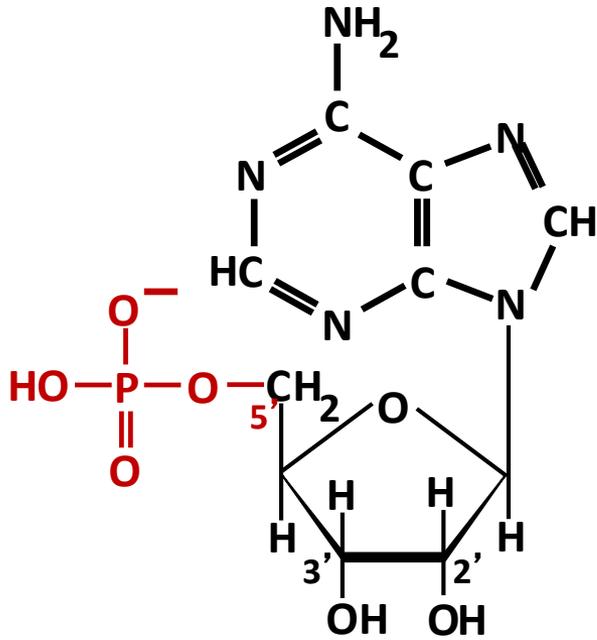
## II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

### Nomenclature des Nucléosides, Nucléotides et Acides nucléiques

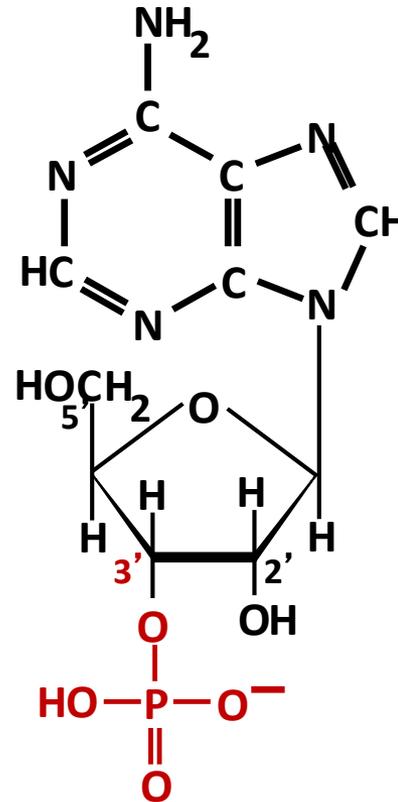
<i>Base</i>	<i>Nucléoside</i>	<i>Nucléotide</i>	<i>ANique</i>	<i>Symbole</i>
<b>Purine</b>				
Adénine	Adénosine	Adénylate	ARN	A, AMP
	Désoxyadénosine	Désoxydénylate	ADN	dA, dAMP
Guanine	Guanosine	Guanylate	ARN	G, GMP
	Désoxyguanosine	Désoxyguanylate	ADN	dG, dGMP
<b>Pyrimidine</b>				
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	ARN	C, CMP
	Désoxycytidine	Désoxycytidylate	ADN	dC, dCMP
Thymine	Désoxythymidine	Désoxythymidylate	ADN	dT, dTMP
Uracile	Uridine	Uridylate	ARN	U, UMP

## II.1.c. Les Nucléosides et Nucléotides

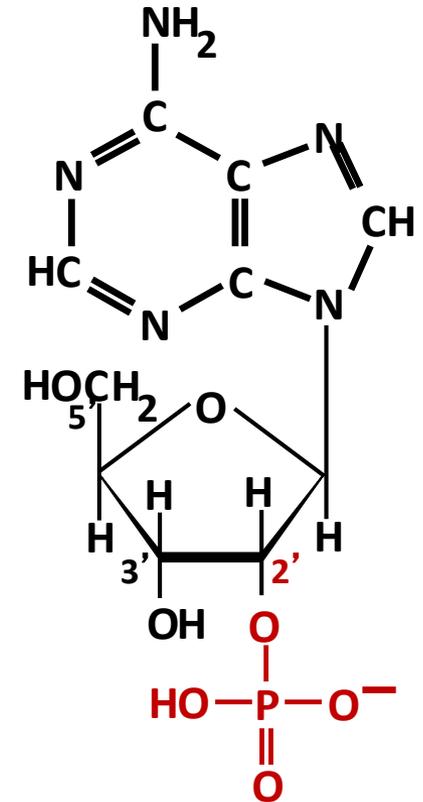
Adénosine-2'-**mon**ophosphate



Adénosine-5'-**mon**ophosphate



Adénosine-3'-**mon**ophosphate



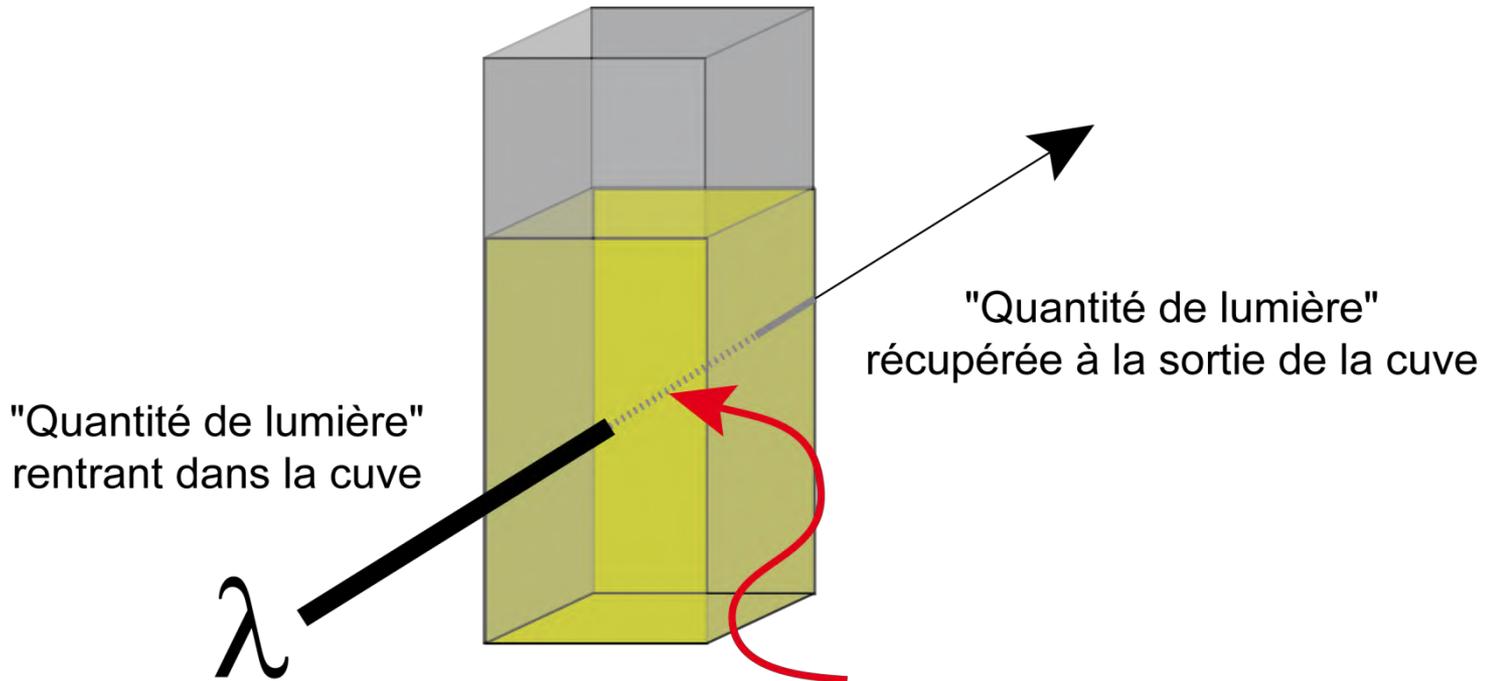
## II.1.d. La nomenclature des Nucléosides et Nucléotides

### Nomenclature des Nucléosides, Nucléotides et Acides nucléiques

<i>Base</i>	<i>Nucléoside</i>	<i>Nucléotide</i>
<b>Purine</b>		
Adénine	Adénosine	Adénosine-5' -monophosphate
	Désoxyadénosine	Désoxydénosine-5' monophosphate
Guanine	Guanosine	Guanosine-5' -monophosphate
	Désoxyguanosine	Désoxyguanosine-5' -monophosphate
<b>Pyrimidine</b>		
Cytosine	Cytidine	Cytidine-5' -monophosphate
	Désoxycytidine	Désoxycytidine-5' -monophosphate
Thymine	Désoxythymidine	Désoxythymidine-5' - monophosphate
Uracile	Uridine	Uridine-5' -monophosphate

## II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

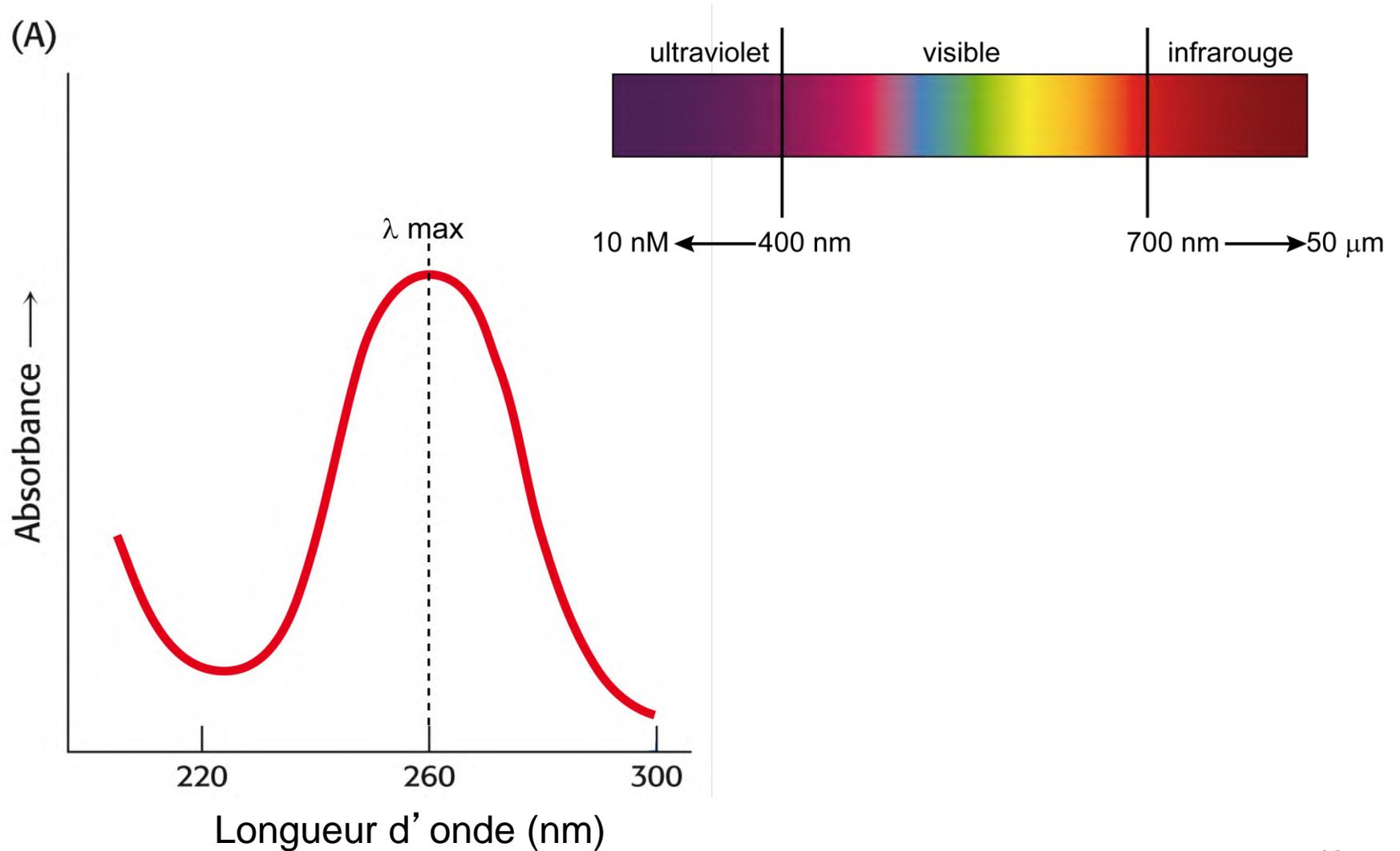
### II.2.a. Propriétés spectroscopiques



"Quantité de lumière" absorbée par la molécule présente dans la cuve = Absorbance. Cette absorbance est proportionnelle à la concentration de la molécule dans la solution présente dans la cuve.

## II.2. Quelques propriétés des Nucléosides et Nucléotides

### II.2.a. Propriétés spectroscopiques



# III. 2<sup>ème</sup> Niveau: Les Macromolécules d' Acides Nucléiques

## III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques

III.1.a. La polymérisation des nucléotides (liaison Phosphodiester)

III.1.b. La liaison hydrogène

III.1.c. Les paires de bases

## III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques

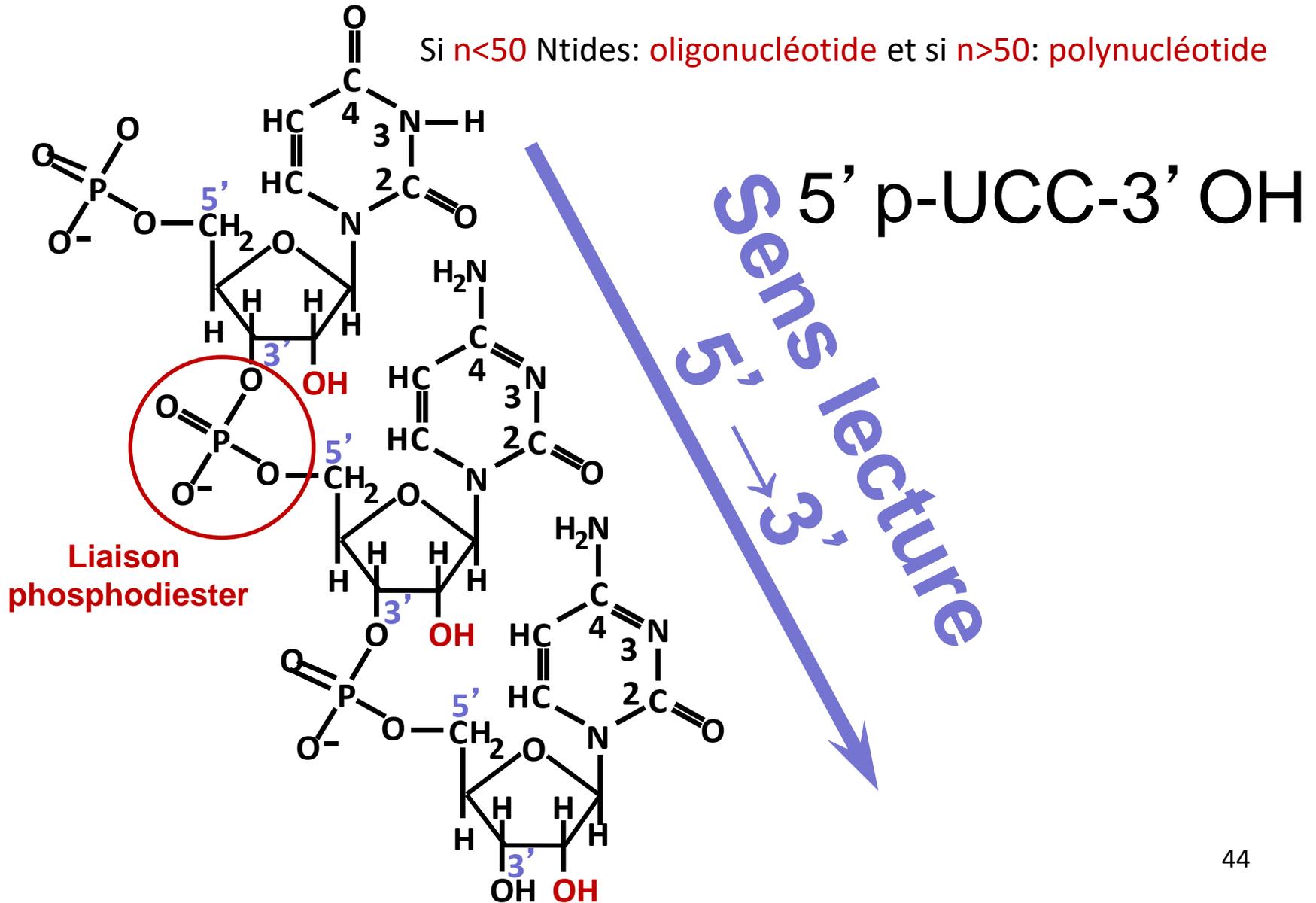
III.2.a. La double hélice d' ADN (Structure III<sup>aire</sup>)

III.2.b. Différentes structures III<sup>aire</sup> d' ARN

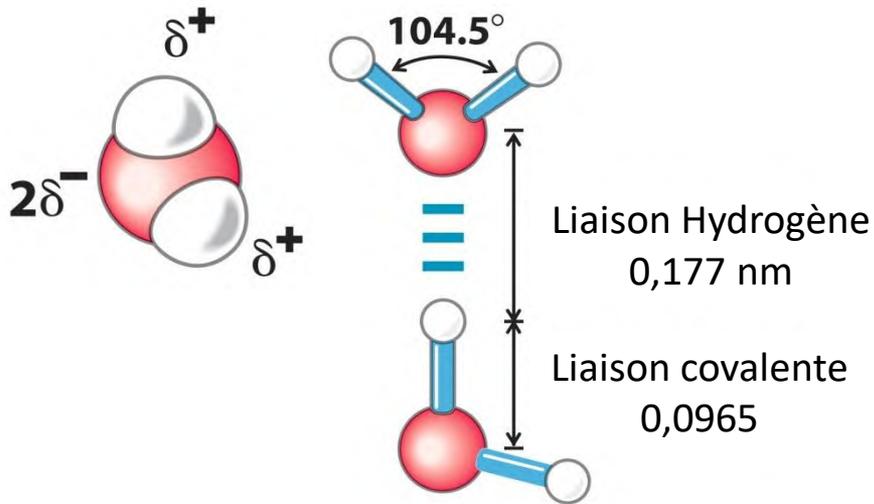
### III.1. Structure Secondaire des Acides Nucléiques

#### III.1.a. La polymérisation des nucléotides (liaison Phosphodiester)

Si  $n < 50$  Ntides: **oligonucléotide** et si  $n > 50$ : **polynucléotide**



### III.1.b. La liaison hydrogène

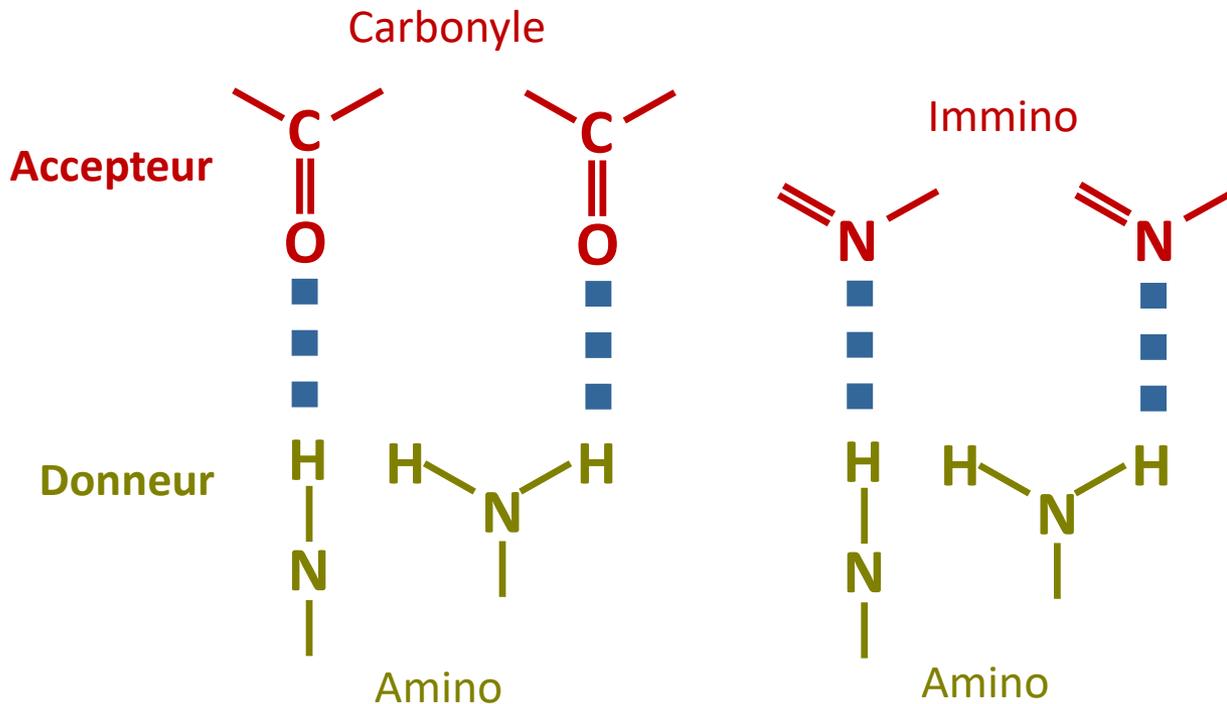


La **liaison hydrogène** est une liaison physique non covalente, de type dipôle-dipôle. Elle est de basse intensité (vingt fois plus faible que liaison covalente classique), et relie des molécules en impliquant un atome d'hydrogène.

Il faut un donneur de liaison hydrogène et un accepteur :

le donneur est un composé : azote, oxygène, fluor, porteur d'un atome hydrogène (comme dans les amines, alcools, thiols) ;

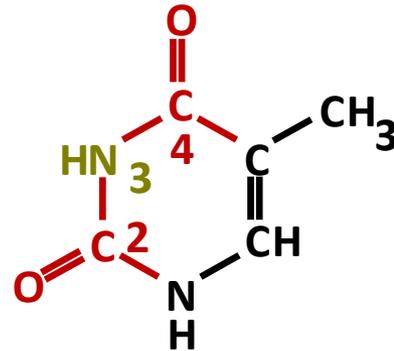
l'accepteur est un composé: uniquement azote, oxygène ou fluor) porteur de doublets libres.



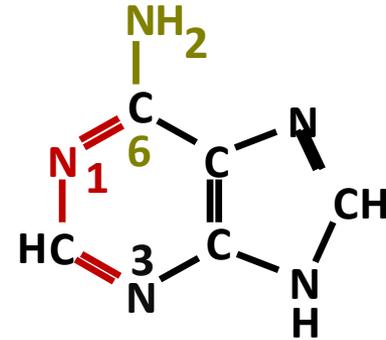
Pour l'établissement des Paires de bases

### III.1.c. les paires de bases

Thymine

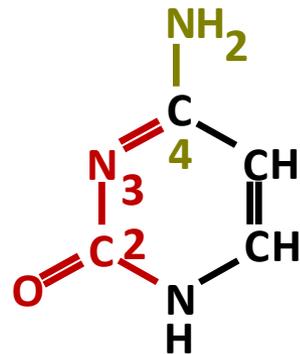


Adénine

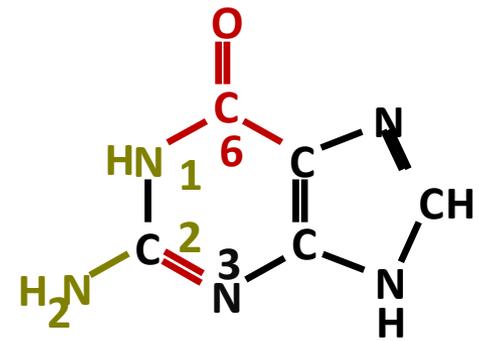


- Les groupements potentiellement impliqués

**Donneur** de liaison H  
**Accepteur**

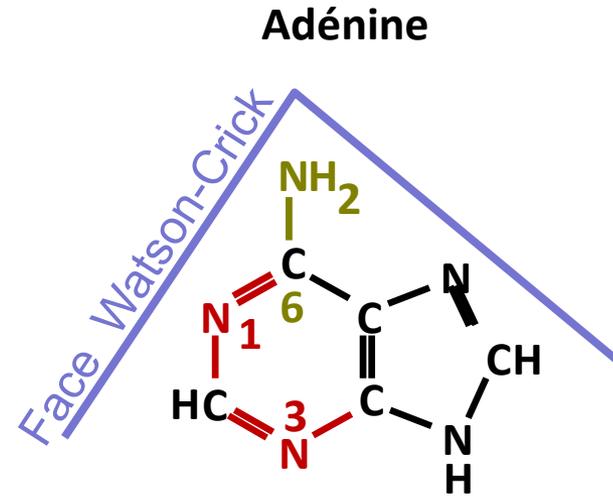
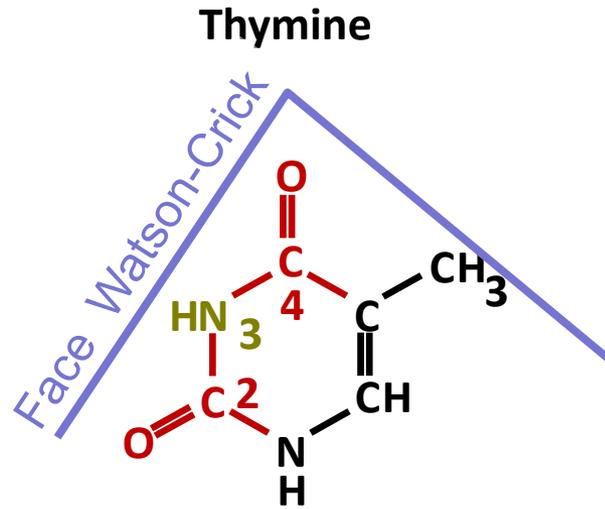


Cytosine

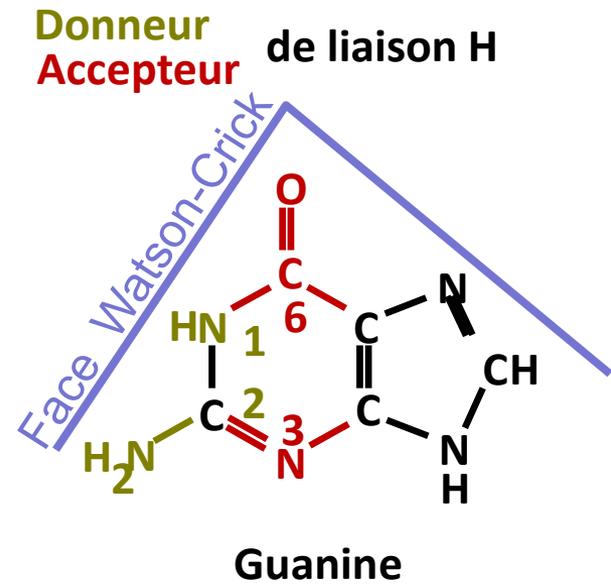
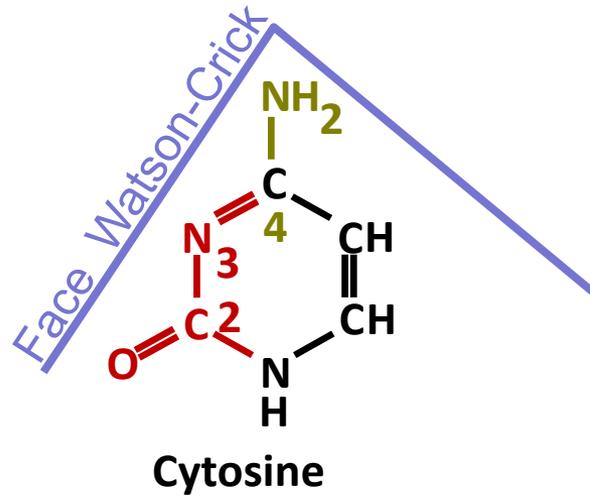


Guanine

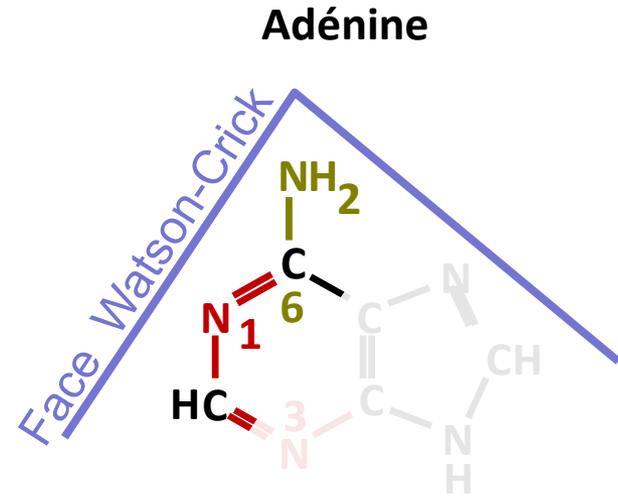
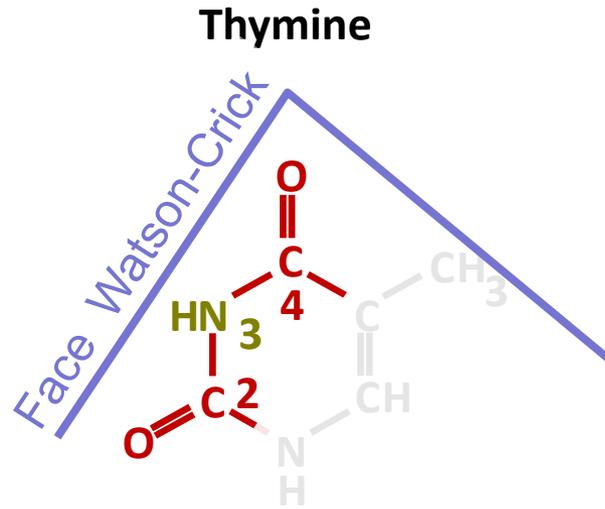
### III.1.c. les paires de bases



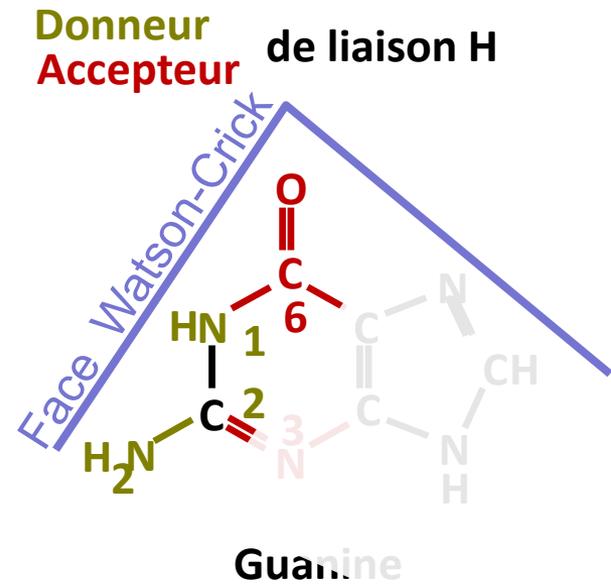
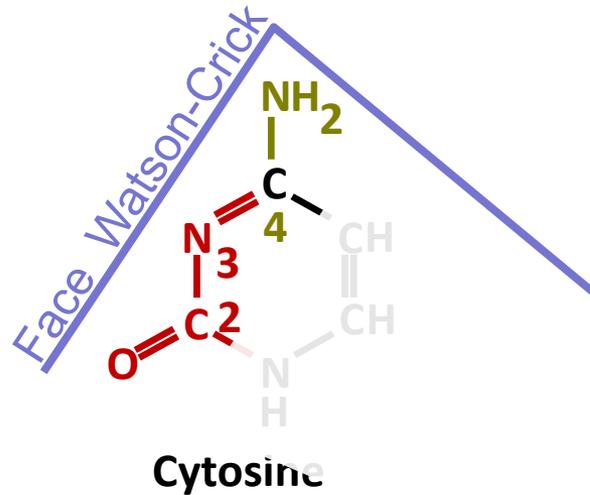
- La face Watson-Crick



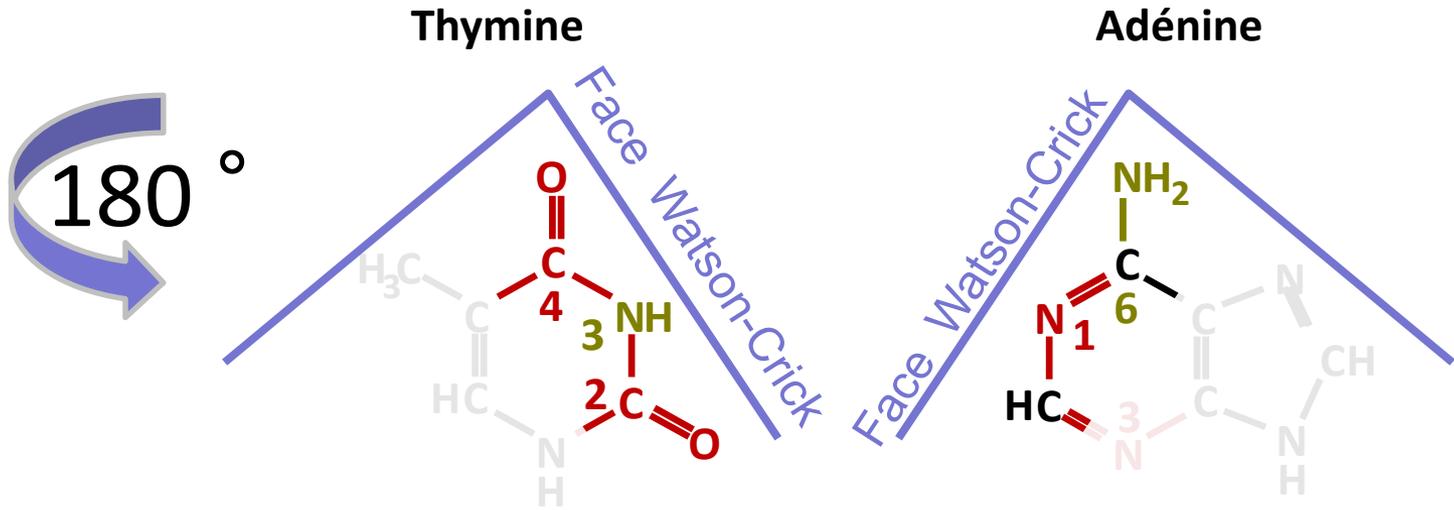
### III.1.c. les paires de bases



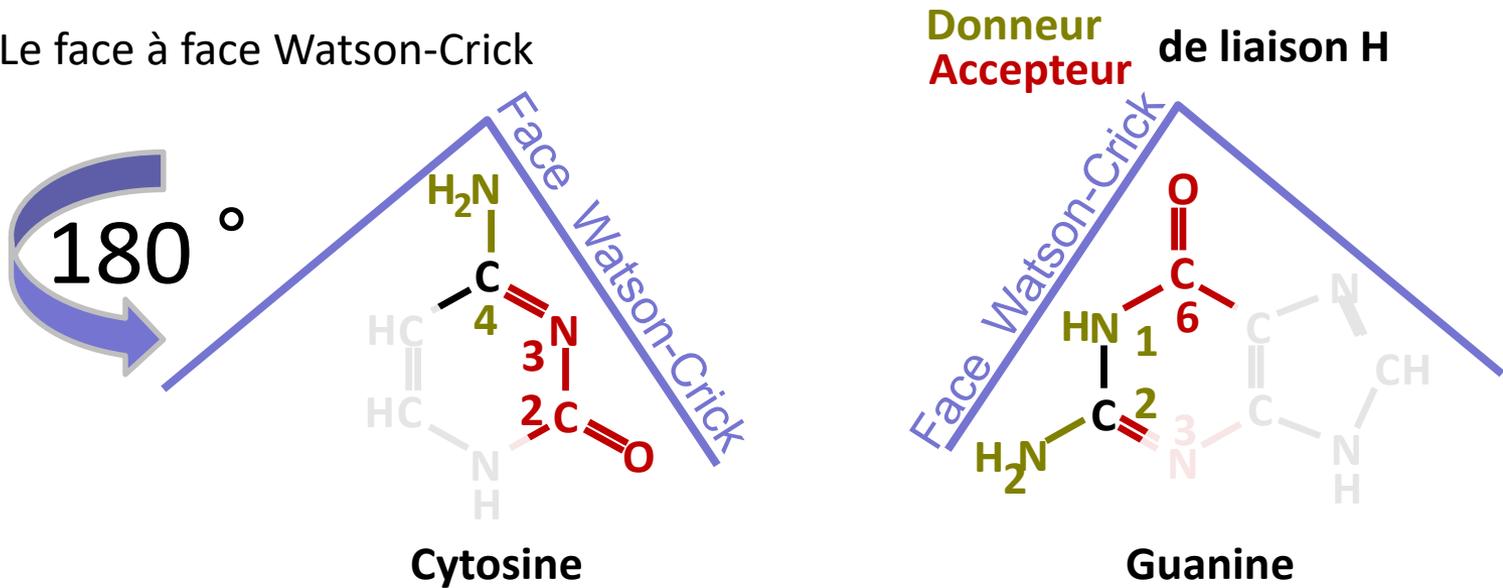
- La face Watson-Crick



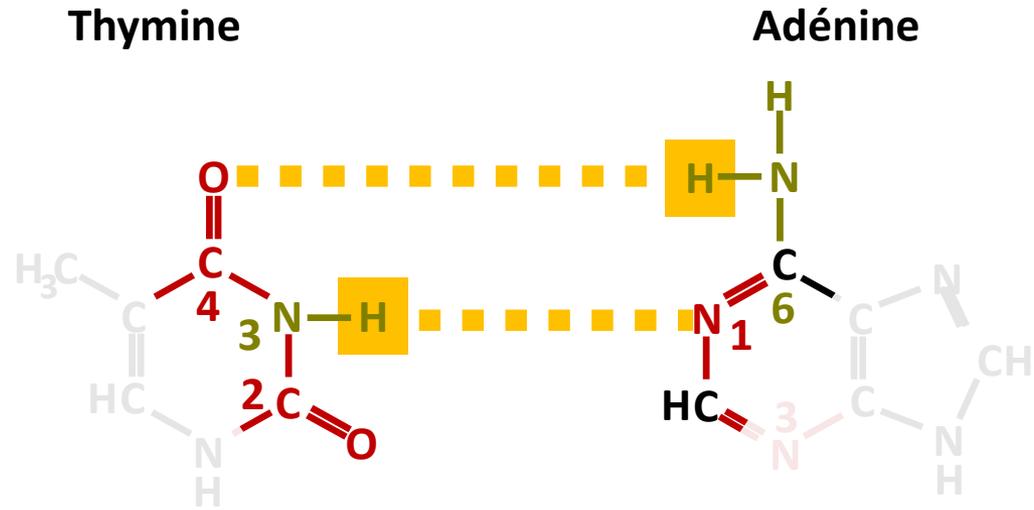
### III.1.c. les paires de bases



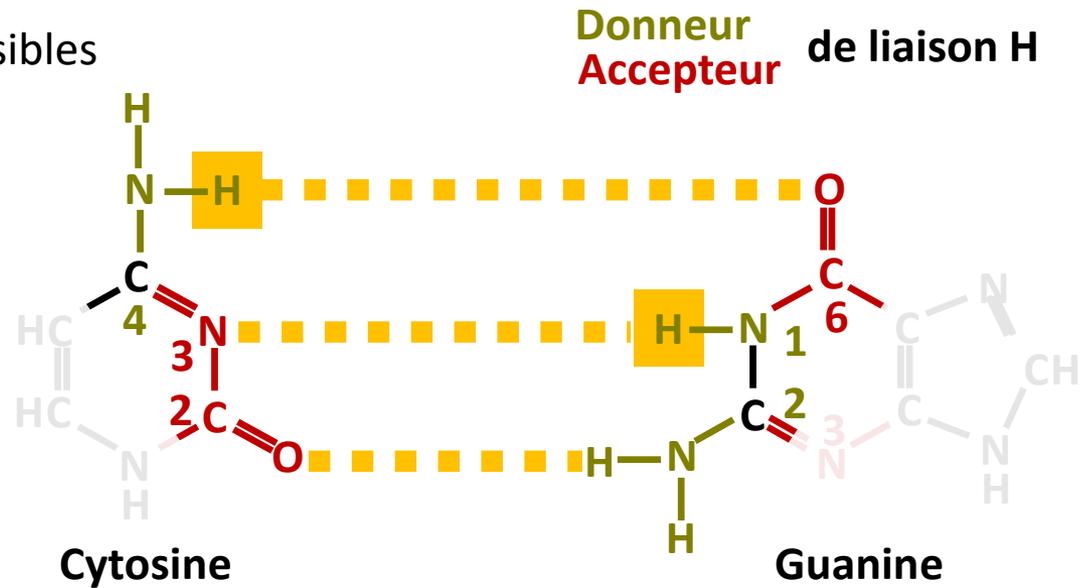
- Le face à face Watson-Crick



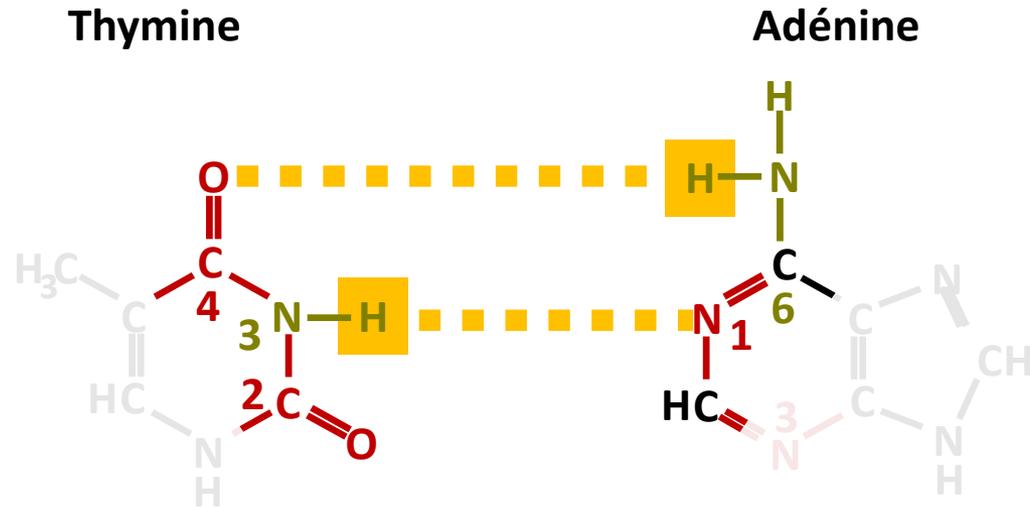
### III.1.c. les paires de bases



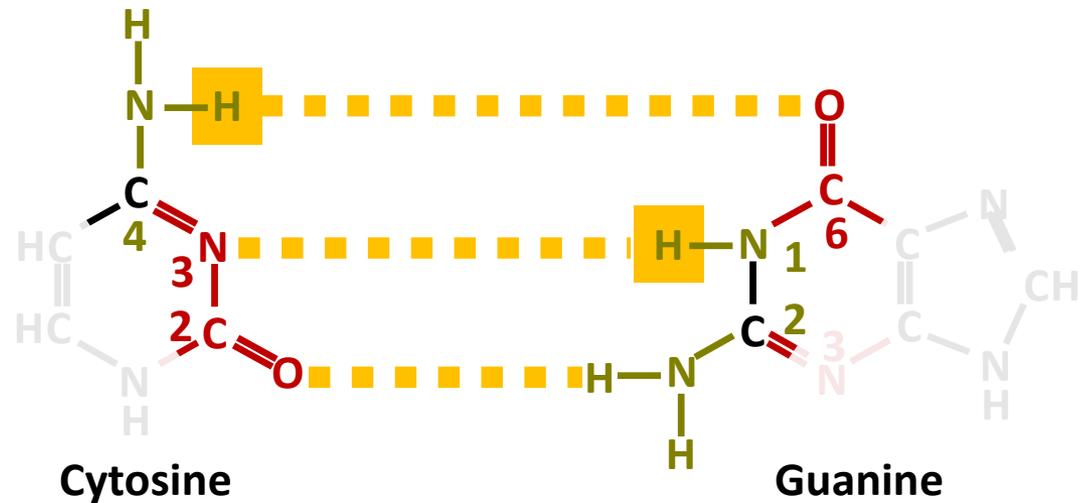
- Les liaisons H possibles



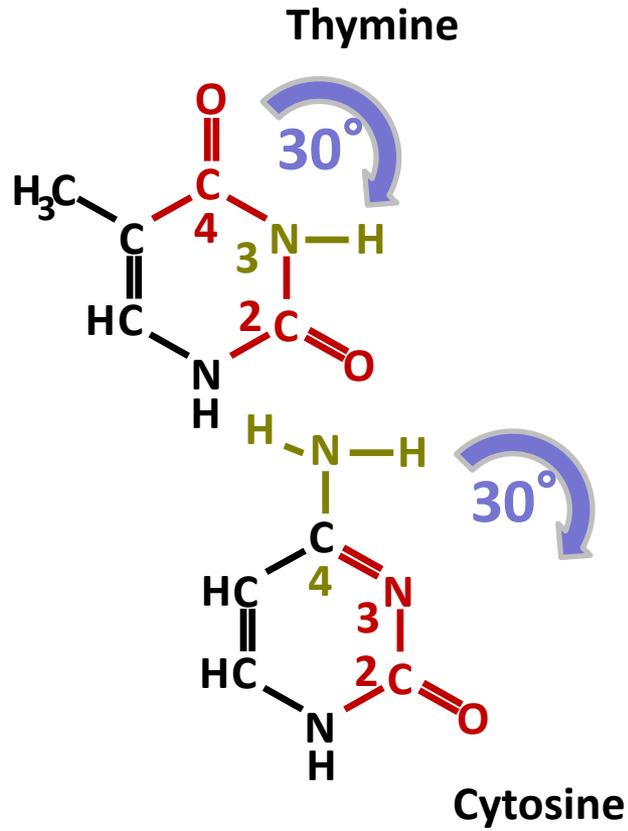
### III.1.c. les paires de bases



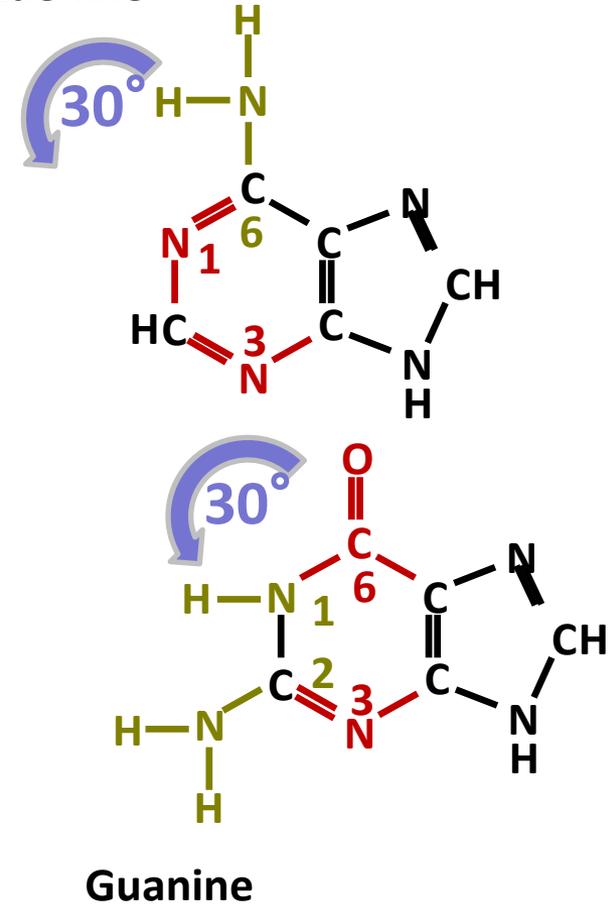
**Toujours  $N_1-H-N_3$**



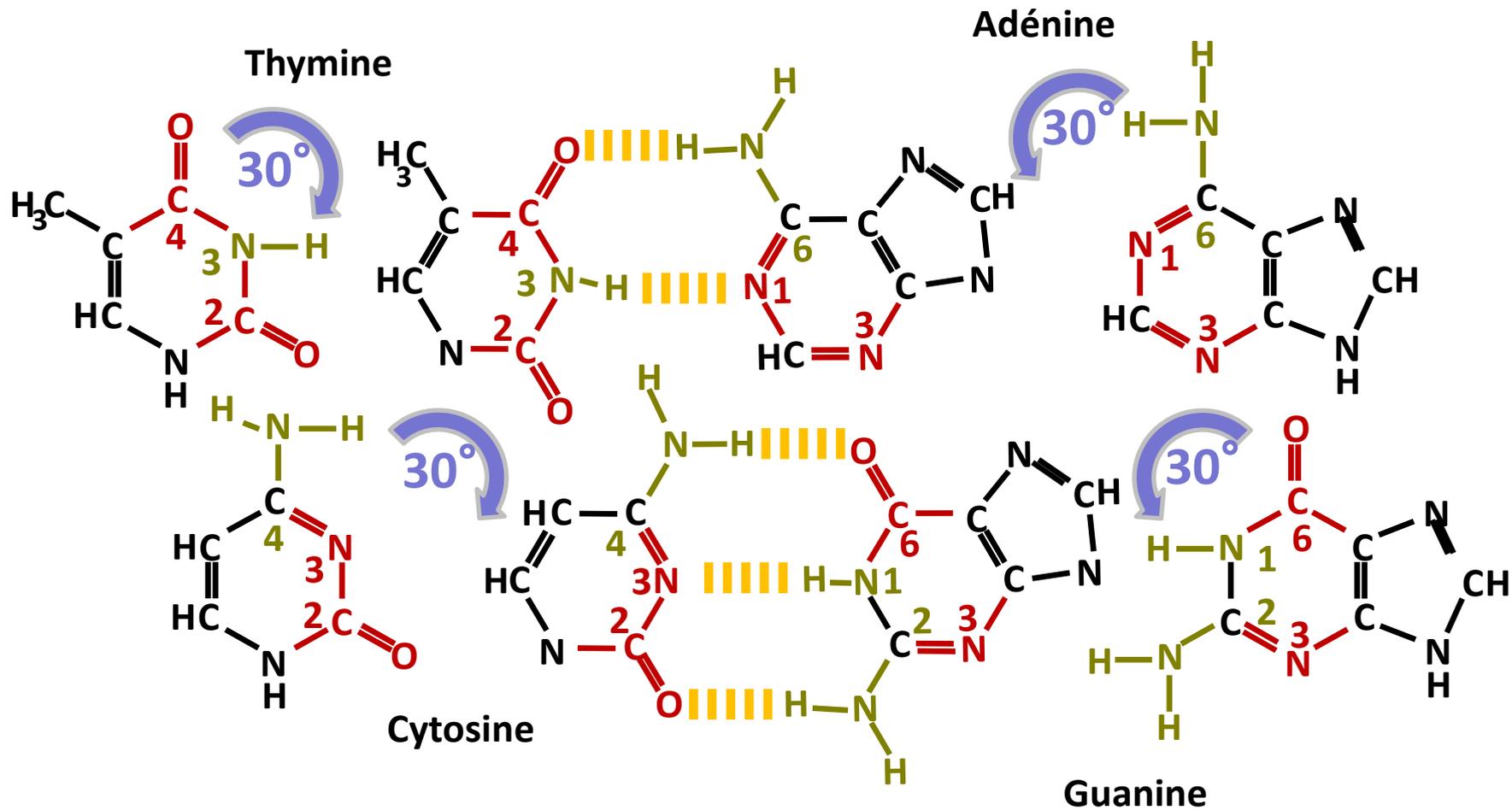
### III.1.c. les paires de bases



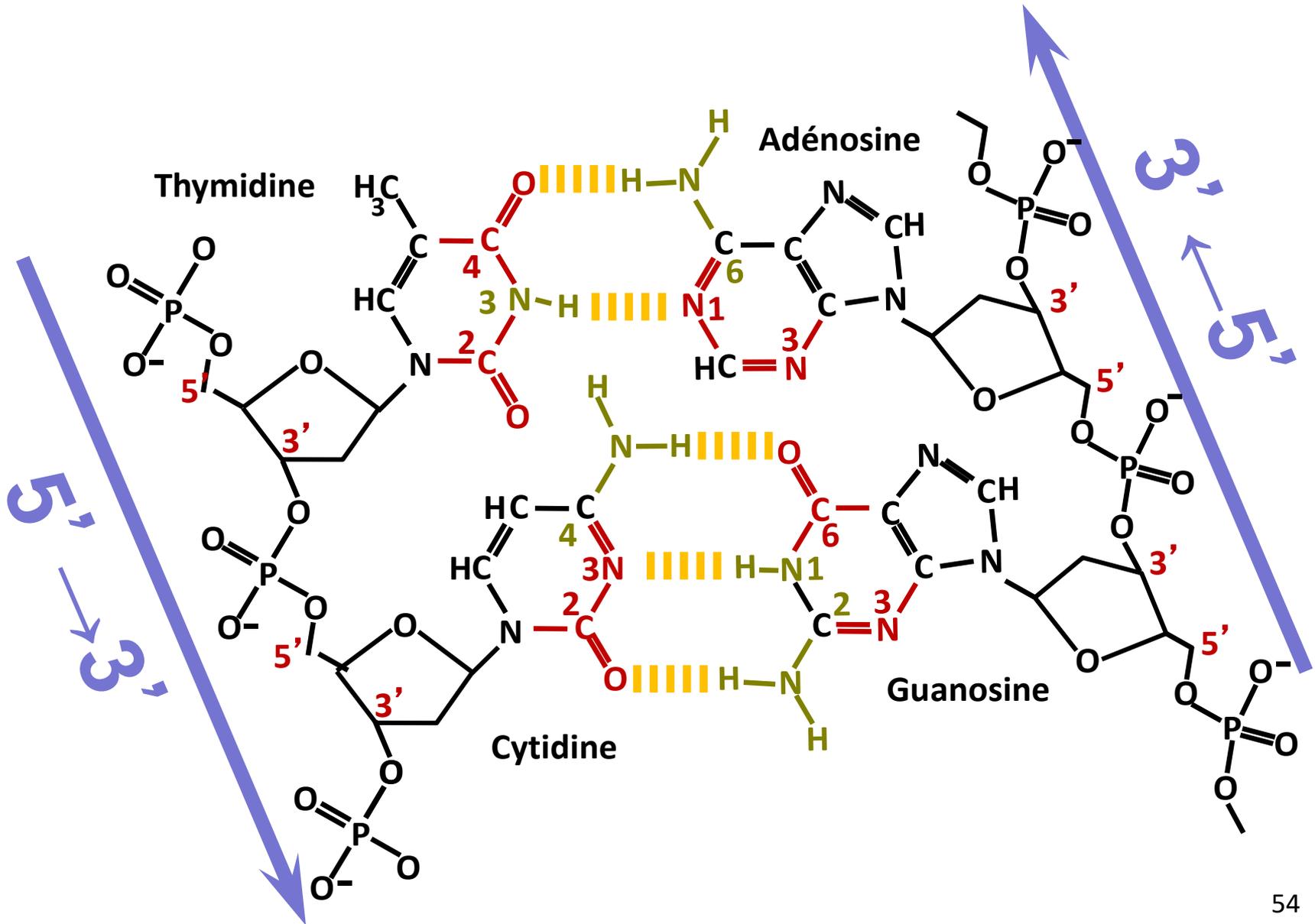
**Adénine**



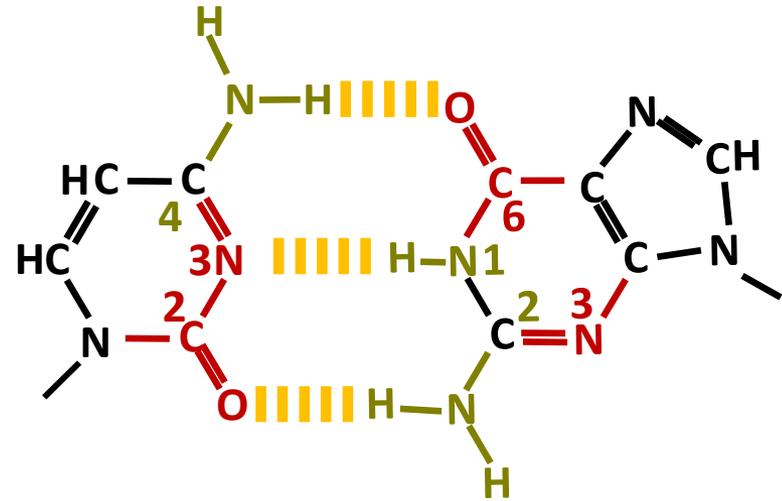
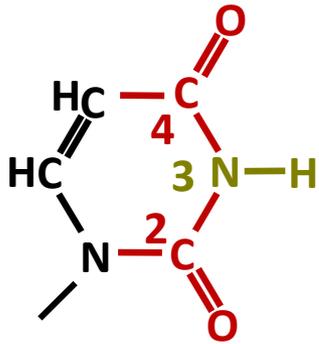
### III.1.c. les paires de bases



### III.1.c. les paires de bases



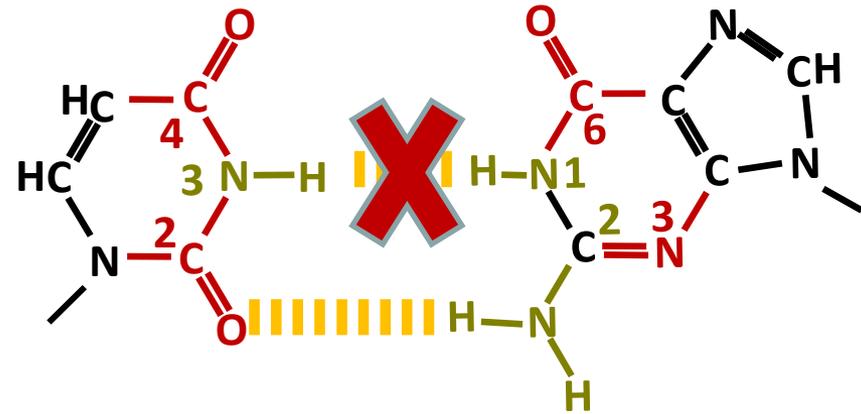
### III.1.c. les paires de bases



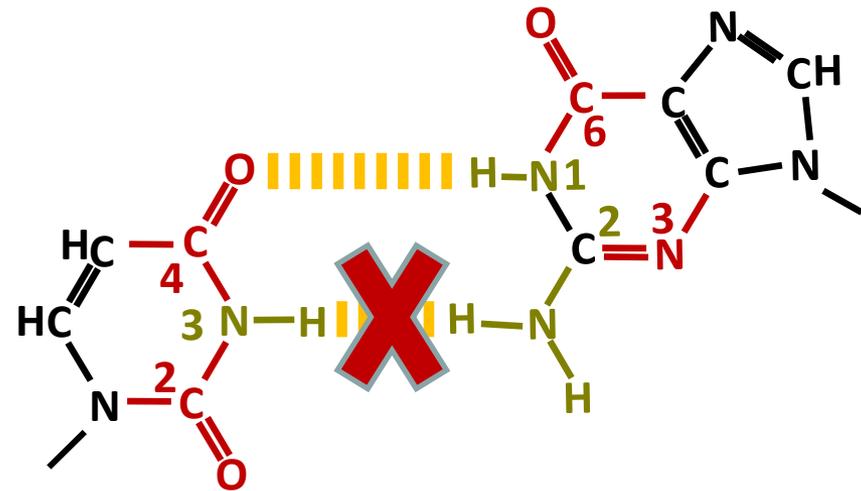
**U**

**C**  **G**

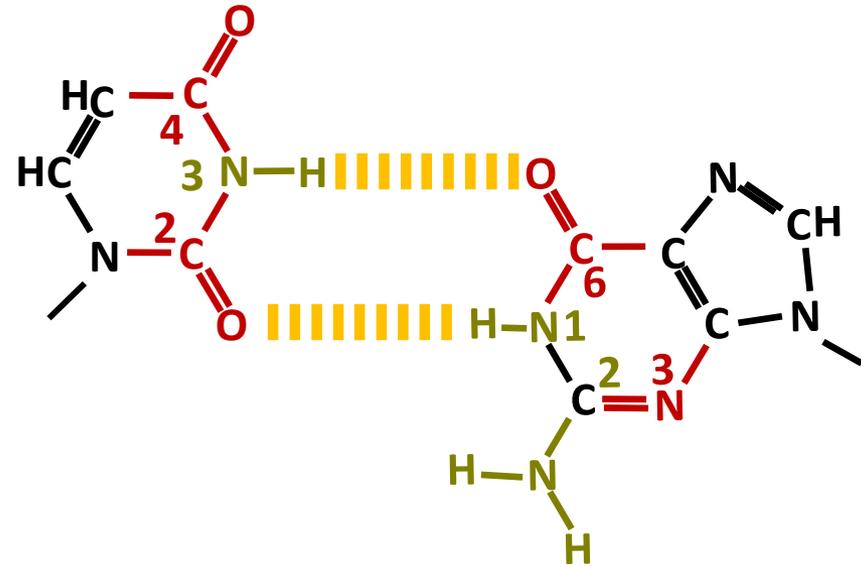
### III.1.c. les paires de bases



### III.1.c. les paires de bases

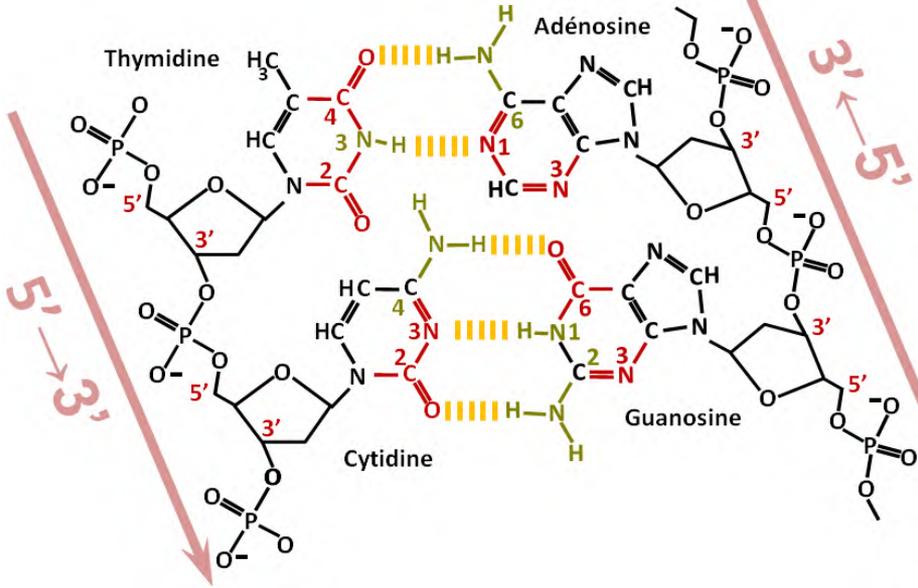


### III.1.c. les paires de bases



### III.1.c. Les paires de bases

Comme l'ADN est bicaténaire et que les 2 brins sont liés par liaisons hydrogènes A=T et G≡C:



$$\frac{A}{T} = 1 \text{ et } \frac{G}{C} = 1 \text{ d'où } \frac{A+G}{T+C} = 1$$

En revanche le rapport d'asymétrie:  $R = \frac{A+T}{G+C} \neq 1$

Il est caractéristique de chaque organisme:

Chez *E. coli*  $R=0,87$  il y a donc 53,47% de pdb G≡C et 46,52 de pdb A=T. Comme G≡C 3 liaisons H et A=T 2 liaisons H, plus il y a de G≡C plus la structure bicaténaire de l'ADN est stable c'est pourquoi les organismes vivant à haute température ont un %age de G≡C important.

## III.2. Structure tertiaire des Acides Nucléiques

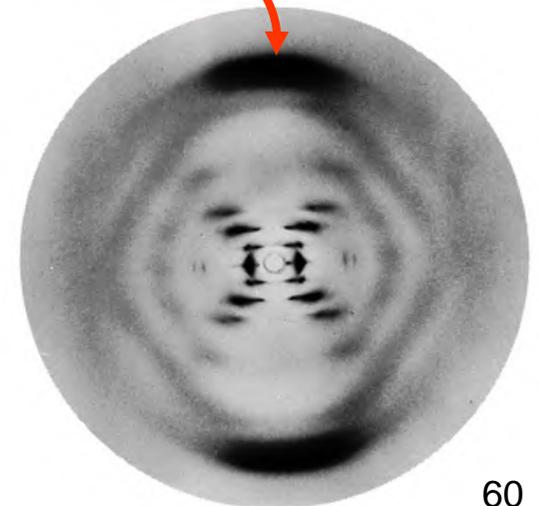


James Watson

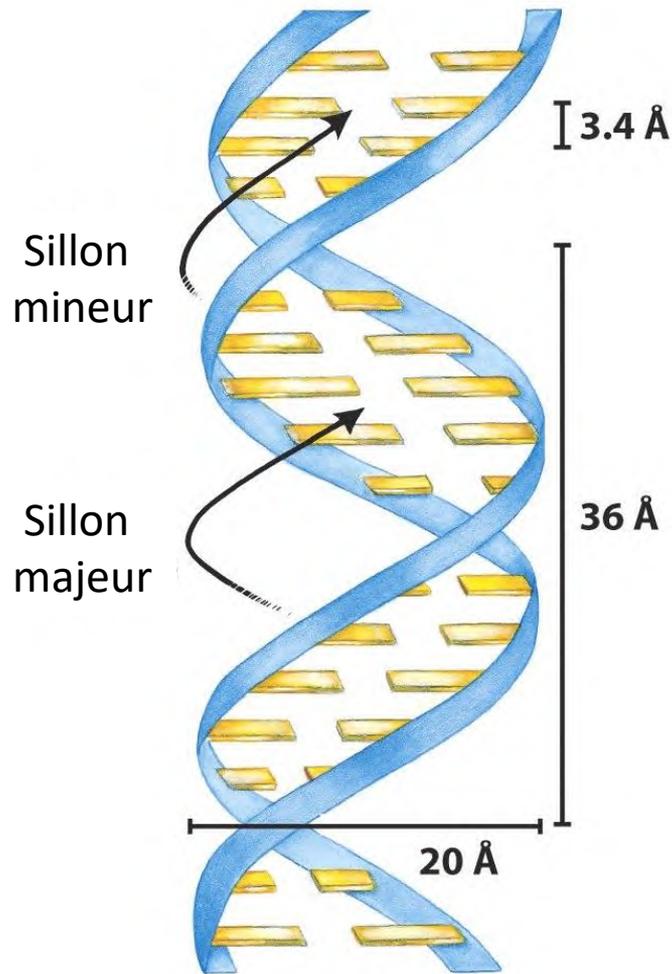
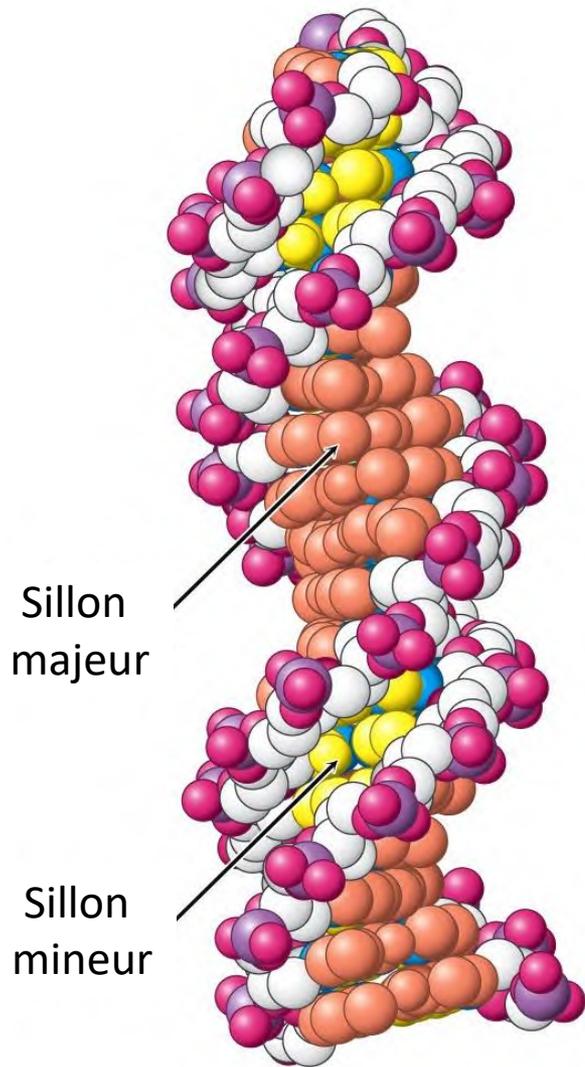


Francis Crick

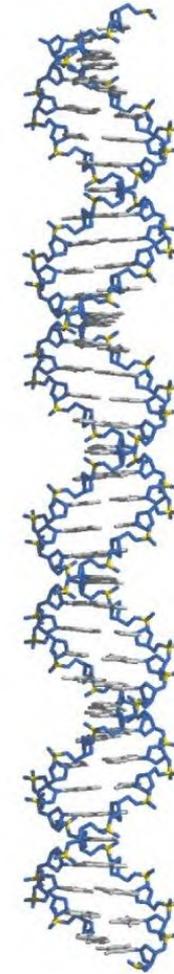
3,4 Å de  
résolution



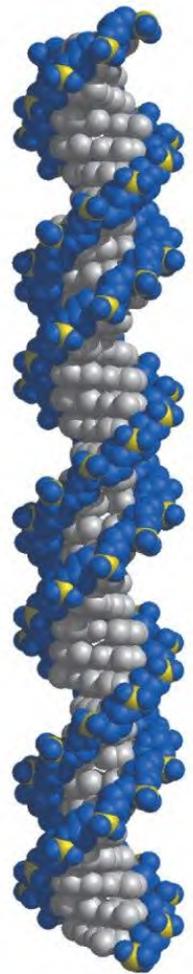
### III.2.a. La double hélice d'ADN (Structure IIIaire)



(a)

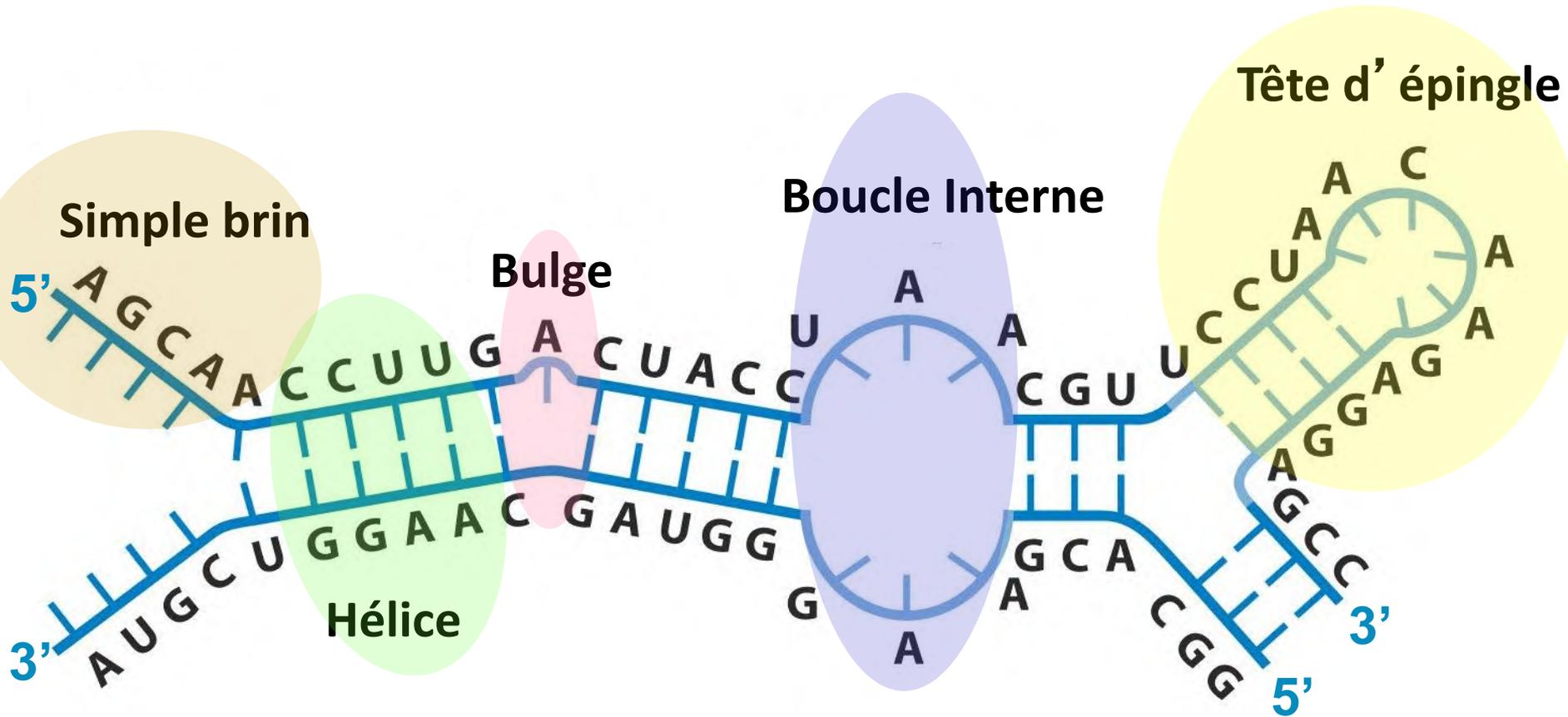


(b)

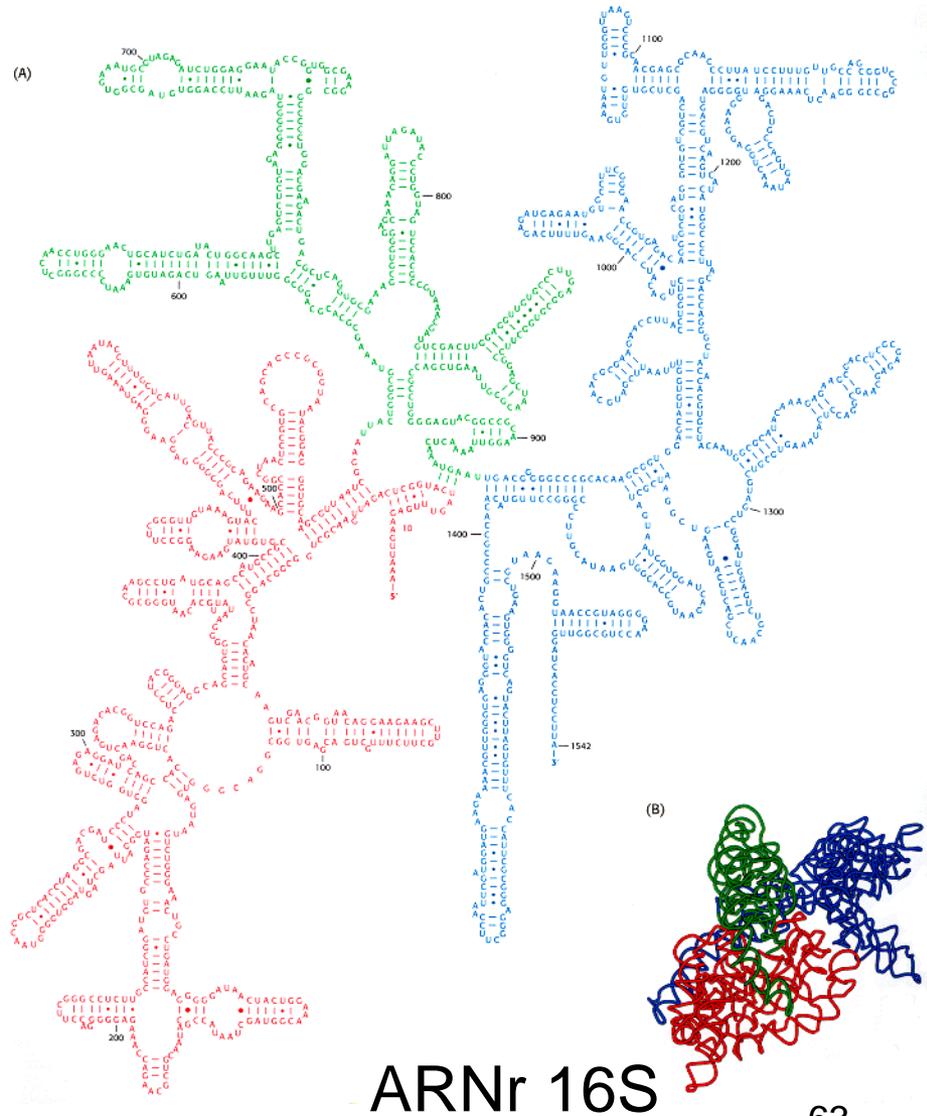
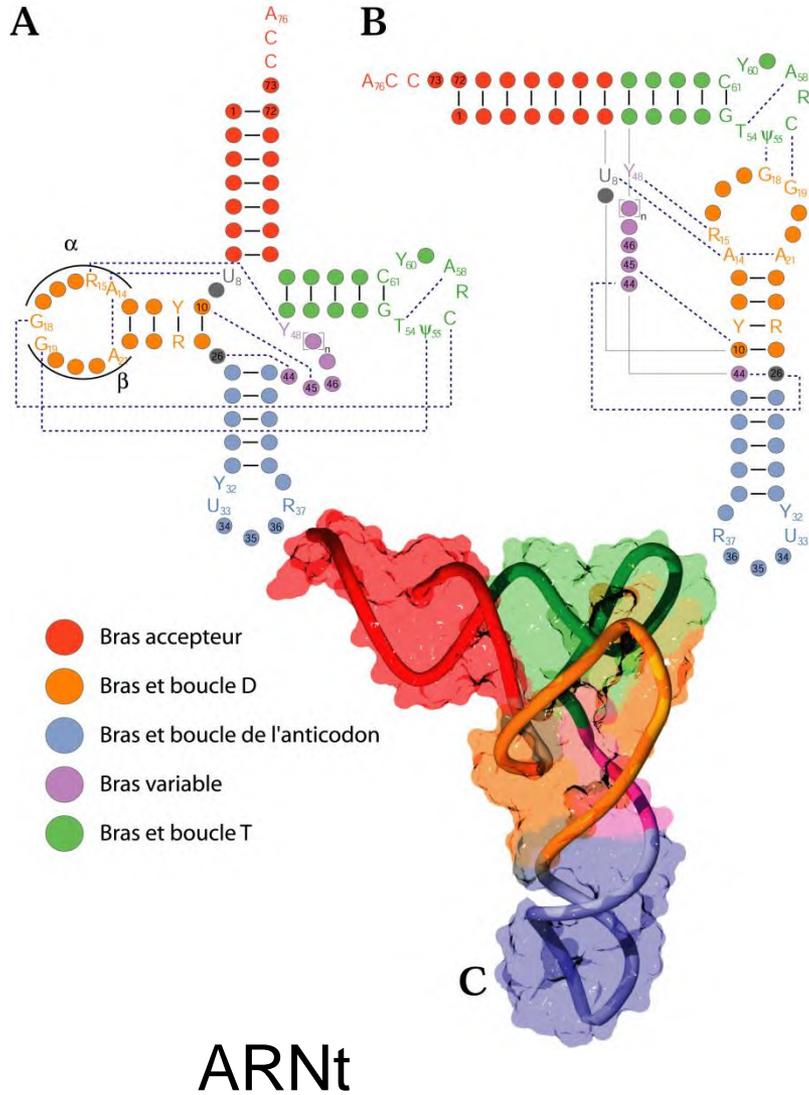


(c)

### III.2.b. Différentes structures IIIaire d'ARN



### III.2.b. Différentes structures IIIaire d'ARN



## IV. 3ème Niveau: Les Complexes supramoléculaires (IV<sup>aire</sup>)

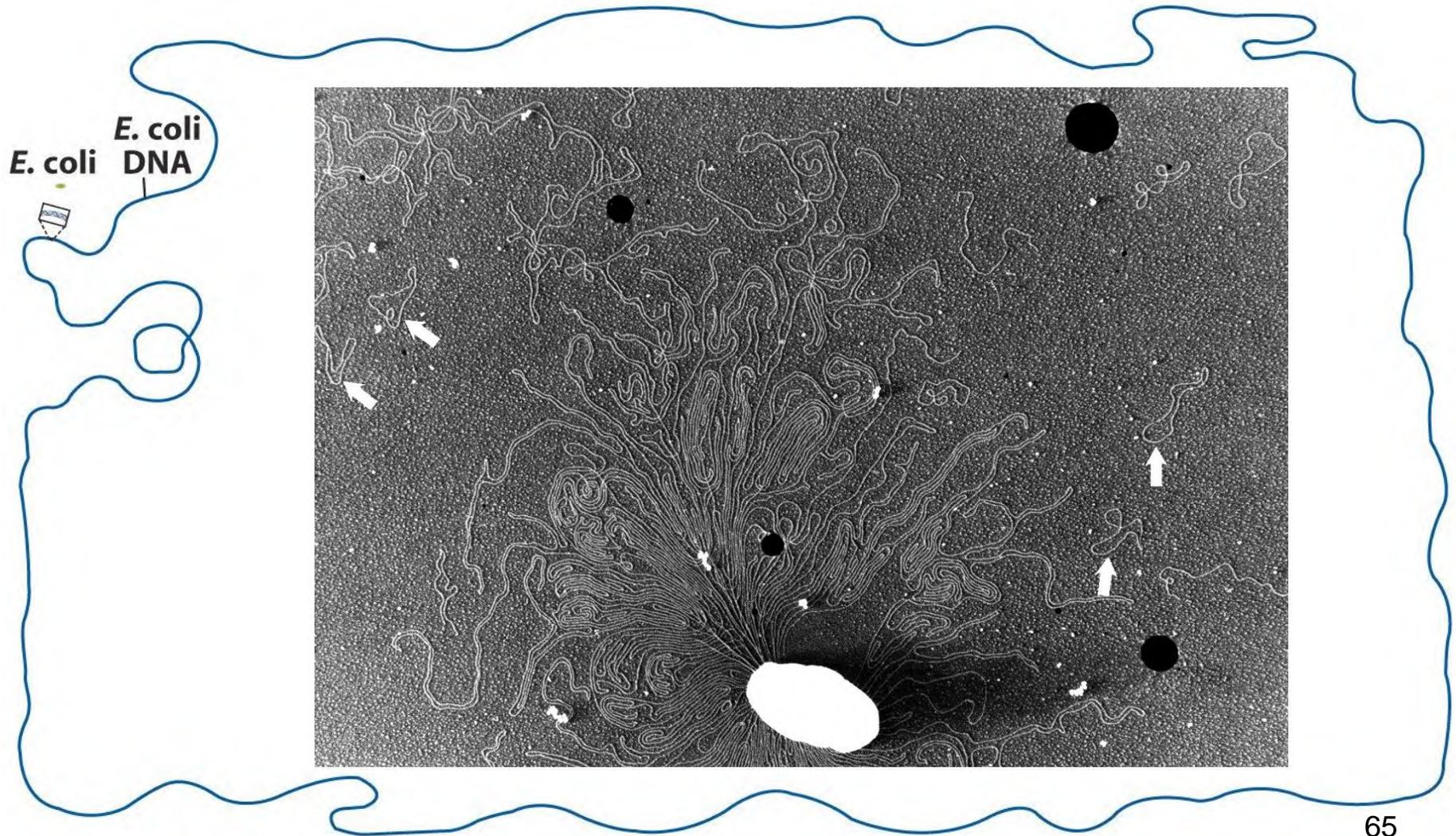
### IV.1. Structures quaternaires de l'ADN

IV.1.a. Chez les procaryotes

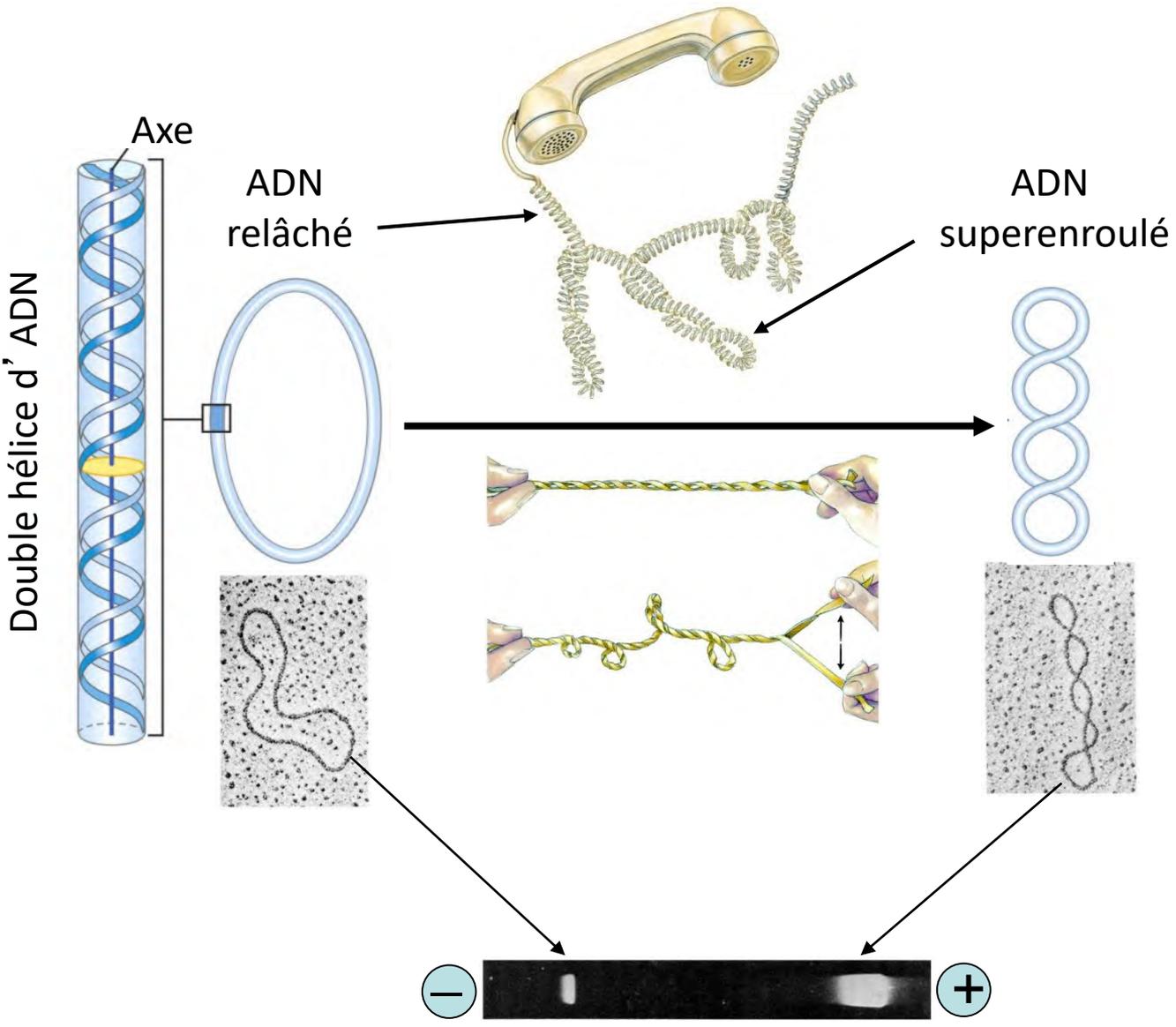
IV.1.b. Chez les eucaryotes

## IV.1.a. Structures quaternaires de l'ADN chez les procaryotes

L'ADN chromosomique ou plasmidique bactérien doit être compacté

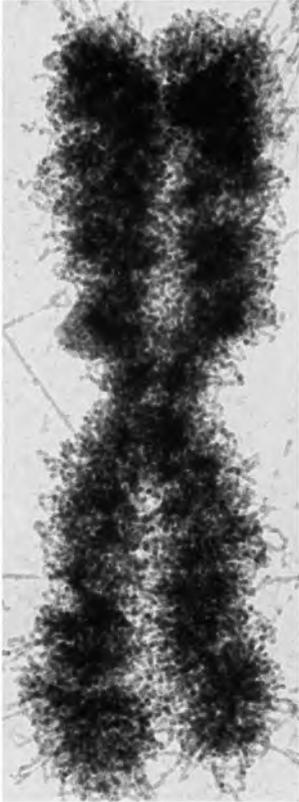


# IV.1.a. Structures quaternaires de l'ADN chez les procaryotes



## IV.1.b. Structures quaternaires de l'ADN chez les eucaryotes

Une cellule humaine contient environ 2 m d'ADN repartis dans 46 chromosomes qui sont renfermés dans un noyau de 6  $\mu\text{M}$ .



Les chromosomes sont tous constitués d'une seule molécule d'ADN qui est condensée par la formation de différents niveaux d'enroulements ou boucles

# V. Manipulation des acides nucléiques

## V.1. Couper l'ADN

V.1.a. Les endonucléases de restriction

## V.2. Couper l'ARN

V.2.a. L'hydrolyse alcaline

## V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques

V.3.a. Dénaturation thermique, hyperchromicité

V.3.b. Hybridation

V.3.c. Température de fusion

## V.4. fractionner les acides nucléiques

V.4.a. Par chromatographie échangeuse d'ions

V.4.b. Par électrophorèse en gel d'agarose ou d'acrylamide

# V. Manipulation des acides nucléiques

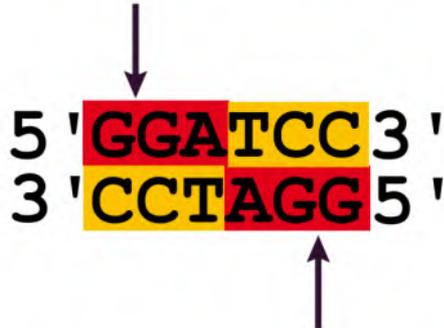
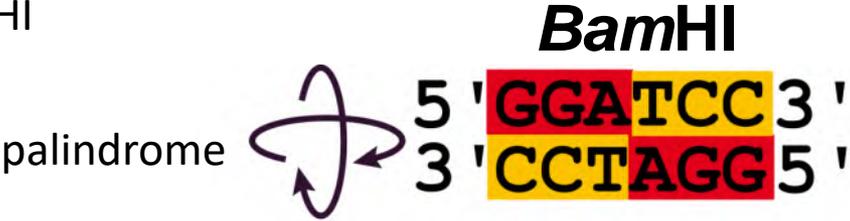
## V.1. Couper l'ADN

Il existe des exonucléase qui coupent l'ADN DB à partir de l'extrémité soit 3' OH soit 5'  
La digestion est récurrente.

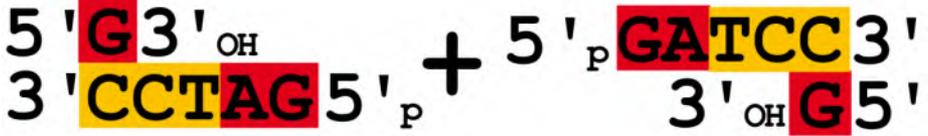
### V.1.a Les endonucléases de restriction

Elles hydrolysent l'ADN DB en faisant une coupure interne.

Ex: *Bam*HI



Coupure du site *Bam*HI  
par *Bam*HI

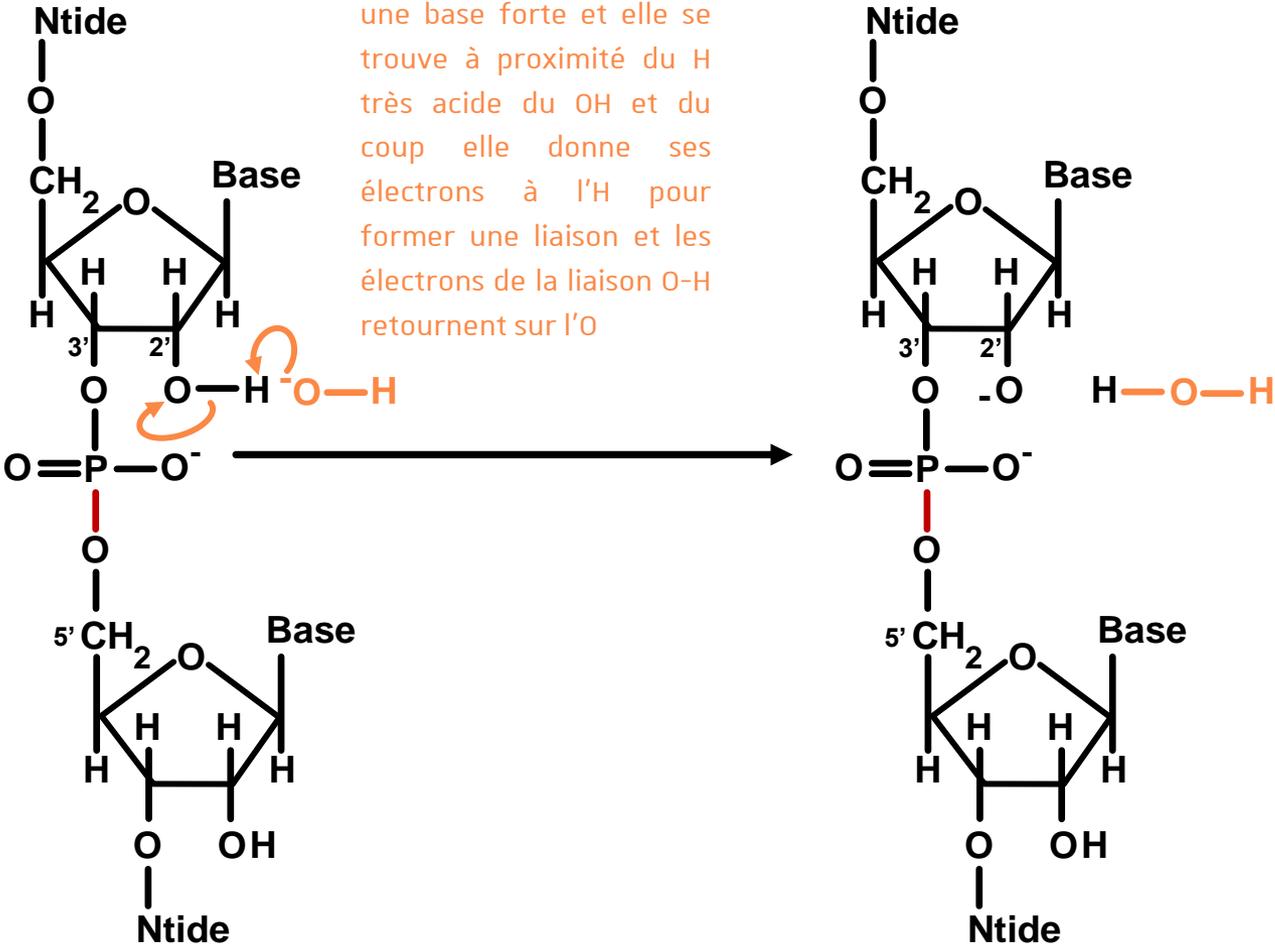




# V.2. Couper l'ARN

## V.2.a. L'hydrolyse alcaline

La base forte agit comme une base forte et elle se trouve à proximité du H très acide du OH et du coup elle donne ses électrons à l'H pour former une liaison et les électrons de la liaison O-H retournent sur l'O



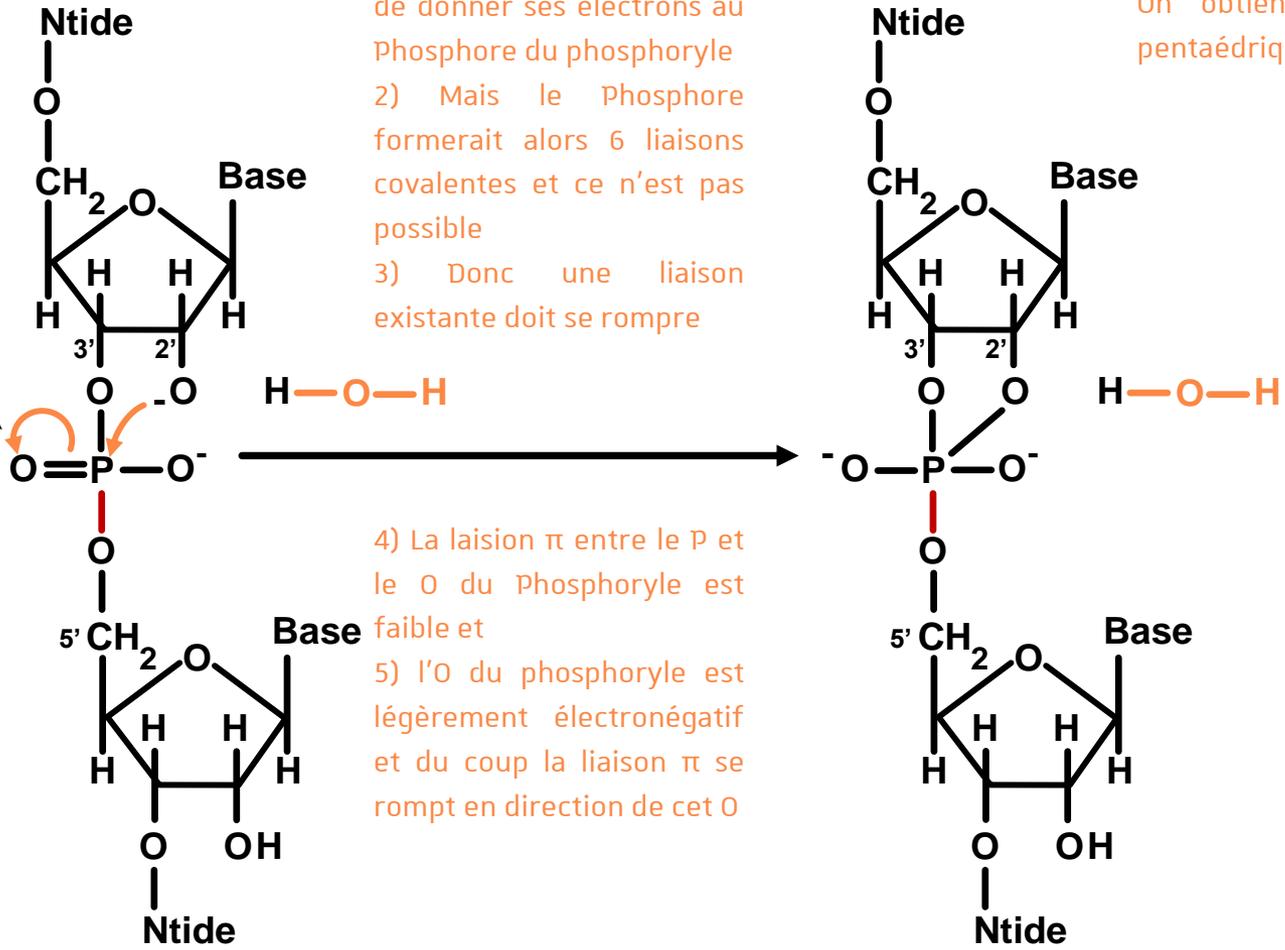
# V.2. Couper l'ARN

## V.2.a. L'hydrolyse alcaline

- 1) La charge négative de l'hydroxyle en 2' est capable de donner ses électrons au Phosphore du phosphoryle
- 2) Mais le Phosphore formerait alors 6 liaisons covalentes et ce n'est pas possible
- 3) Donc une liaison existante doit se rompre

On obtient un composé pentaédrique très instable

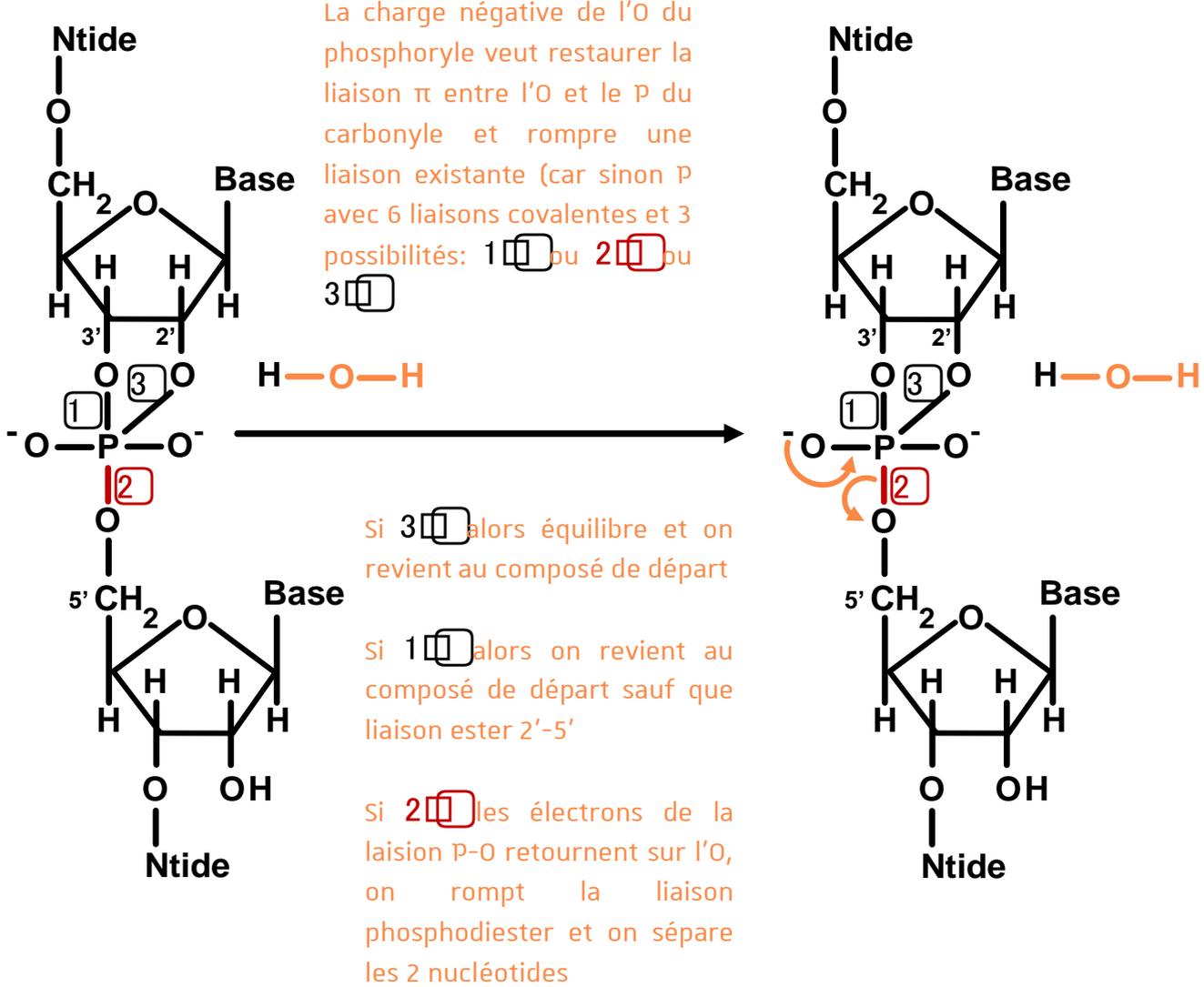
Le phosphoryle à cause de sa liaison faible  $\pi$  est électrophile (accepteur de paires d'électrons)



- 4) La liaison  $\pi$  entre le P et le O du Phosphoryle est faible et
- 5) l'O du phosphoryle est légèrement électronégatif et du coup la liaison  $\pi$  se rompt en direction de cet O

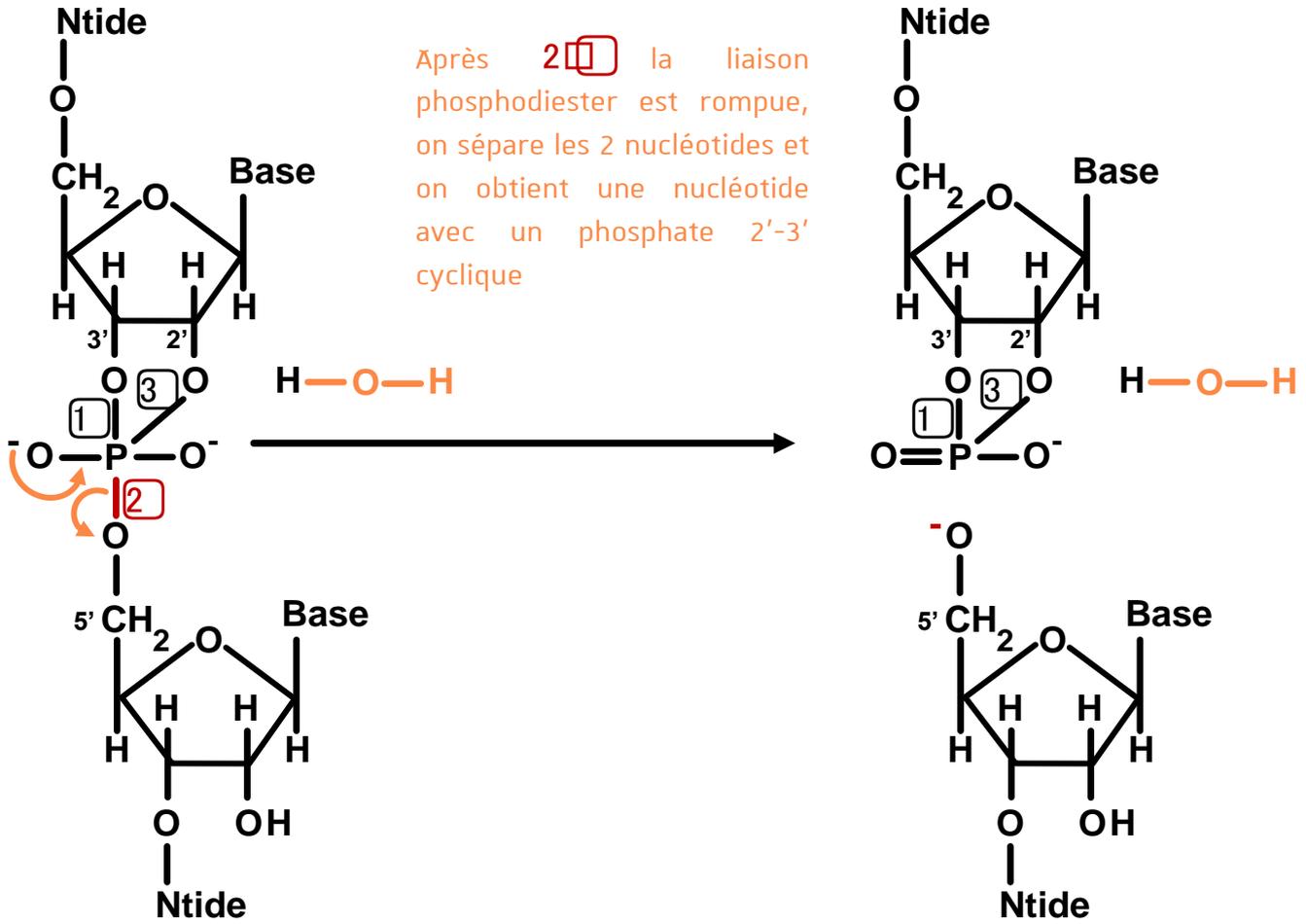
# V.2. Couper l'ARN

## V.2.a. L'hydrolyse alcaline



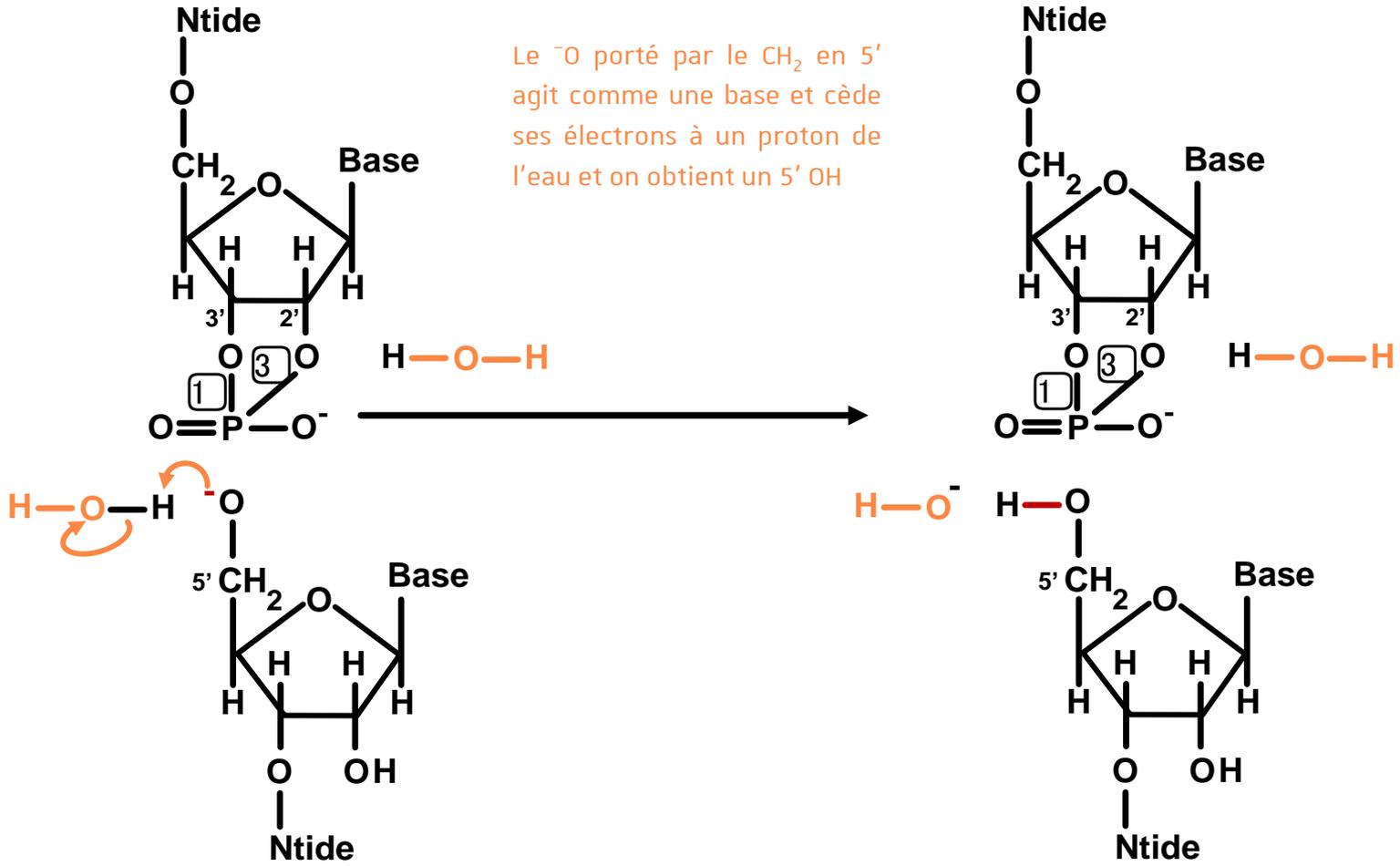
# V.2. Couper l'ARN

## V.2.a. L'hydrolyse alcaline



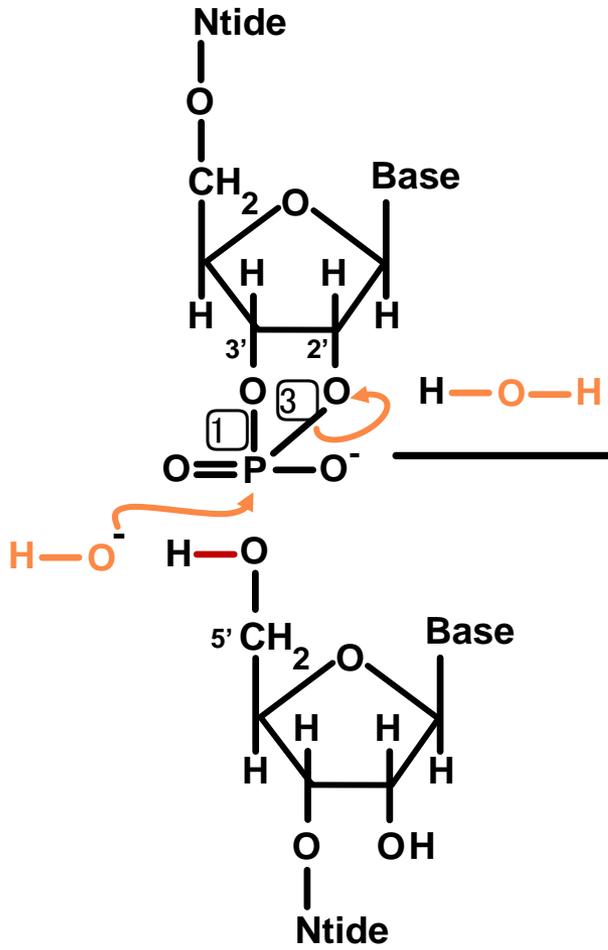
# V.2. Couper l'ARN

## V.2.a. L'hydrolyse alcaline



# V.2. Couper l'ARN

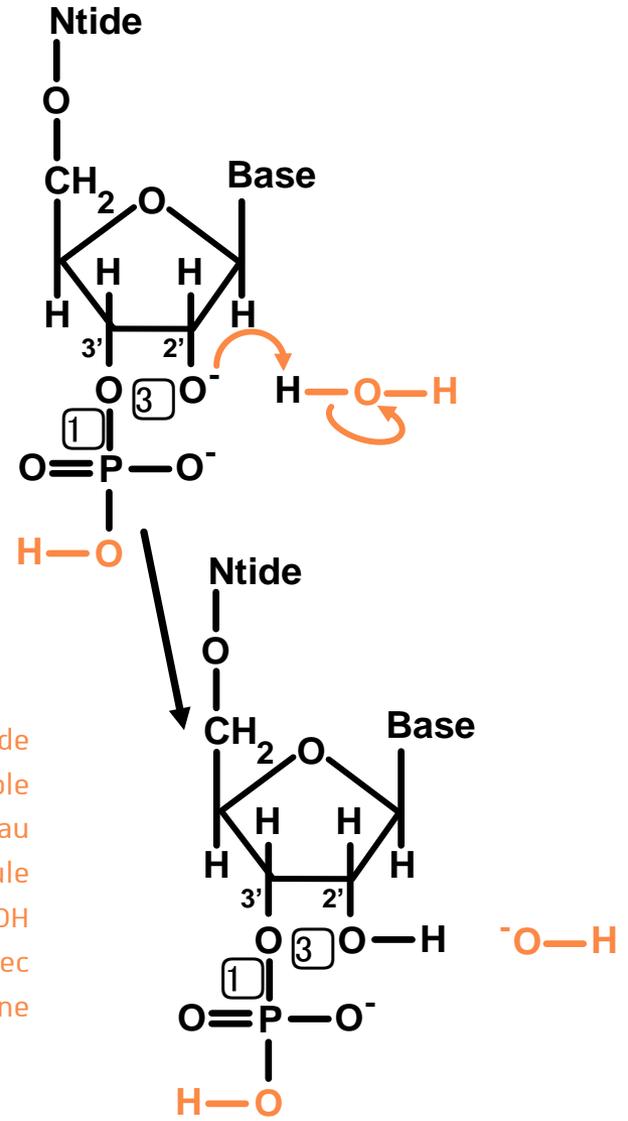
## V.2.a. L'hydrolyse alcaline



- 1) La charge négative de l'hydroxyle en 2' est capable de donner ses électrons au Phosphore électrophile du phosphoryle
- 2) Mais le Phosphore formerait alors 6 liaisons covalentes et ce n'est pas possible
- 3) Donc une liaison P-O existante, 1 ou 3 doit se rompre

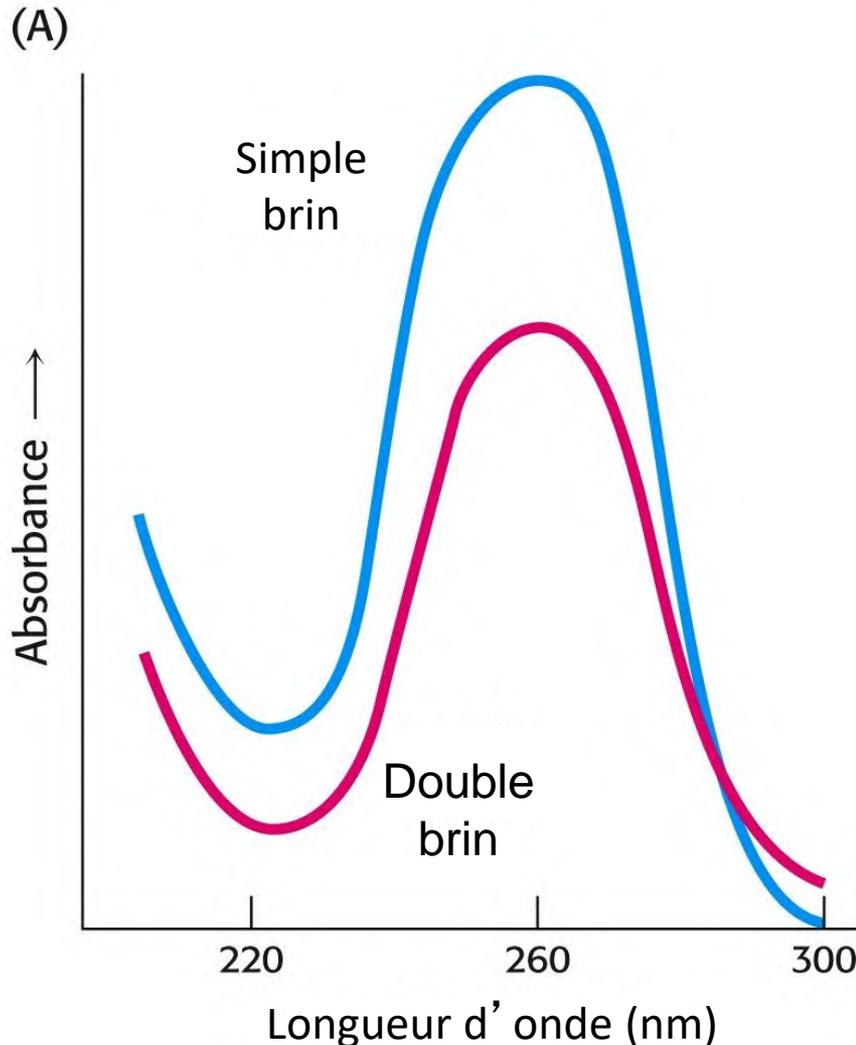
et les électrons retournent sur l'O en 2' si 1 ou 3

- 1) La charge négative de l'hydroxyle en 3' est capable de donner ses électrons au proton d'une molécule d'H<sub>2</sub>O et on obtient un 3'OH et l'OH de départ avec la «consommation» d'une molécule de H<sub>2</sub>O



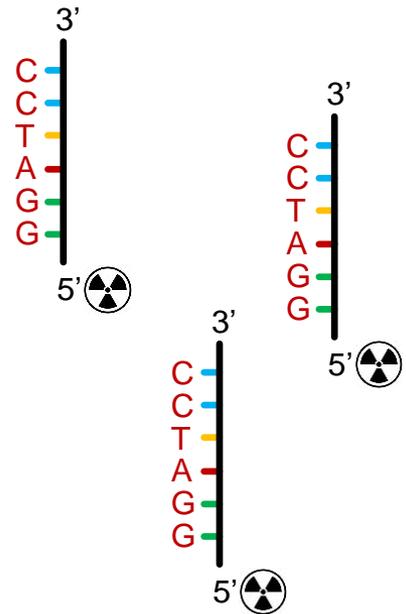
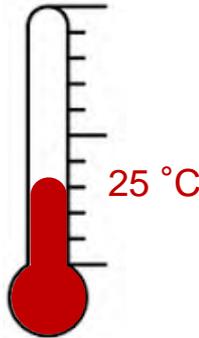
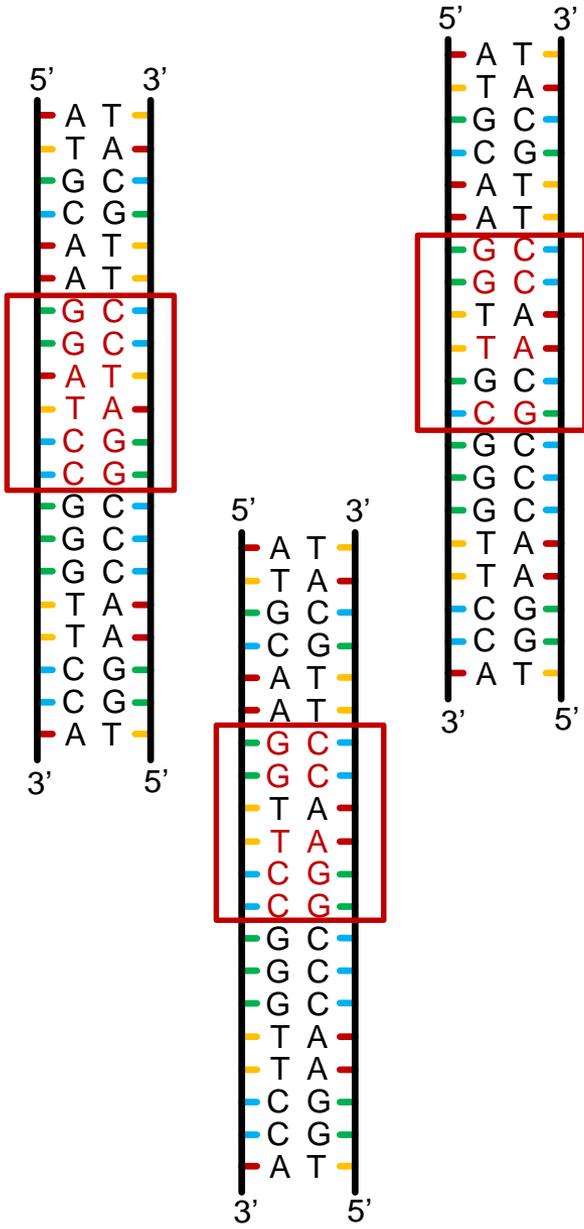
## V.3. Dénaturation/Renaturation des acides nucléiques

### V.3.a. Dénaturation thermique, hyperchromicité

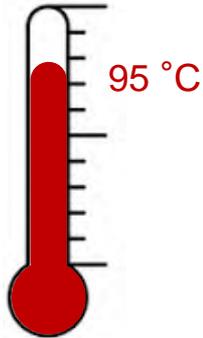
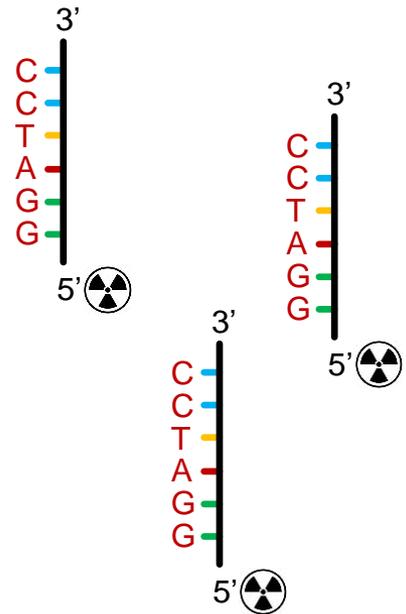
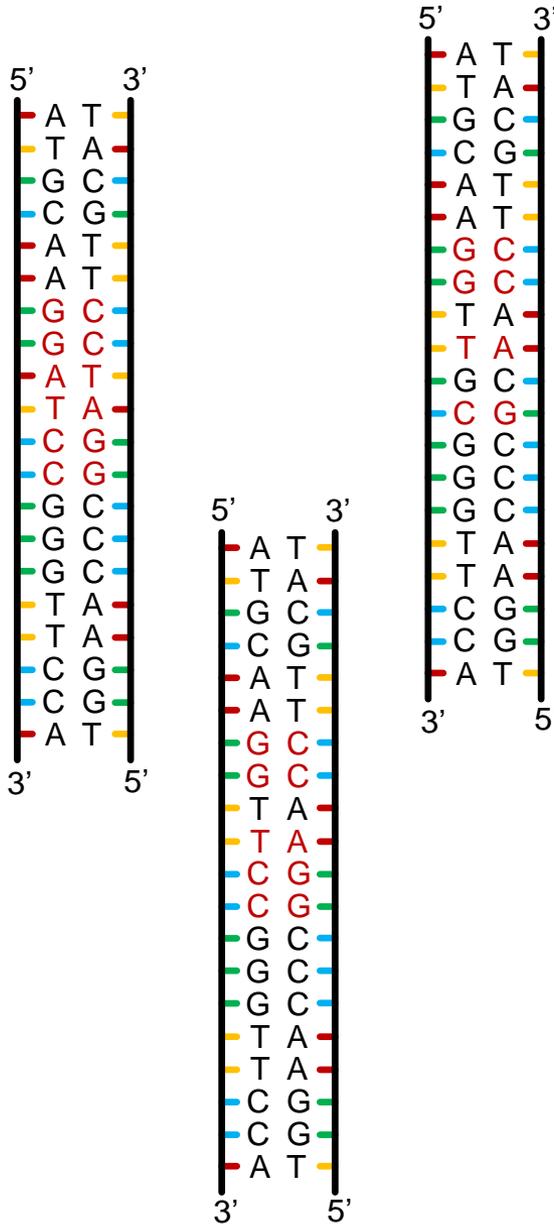


L'ADN absorbe à 260 nm à cause des doubles liaisons conjuguées des bases puriques et pyrimidiques. Dans une double hélice d'ADN les bases sont empilées et ceci diminue leur absorption dans l'UV. Lorsque l'on chauffe l'ADN, les brins se séparent, les bases sont plus exposées et la densité optique à 260 nm augmente. C'est l'hyperchromicité ou effet hyperchrome qui est dû à la séparation des 2 brins d'ADN appelée fusion, cad à la rupture des liaisons des paires de bases.

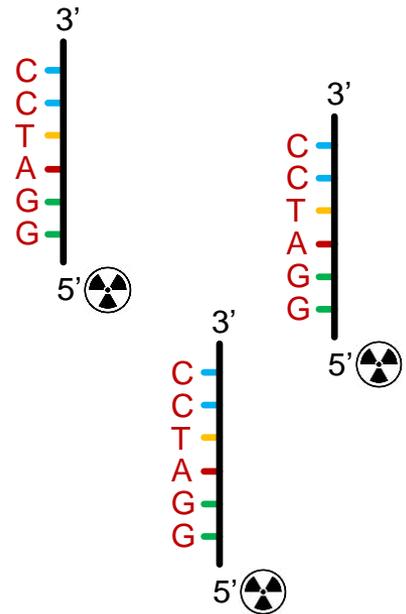
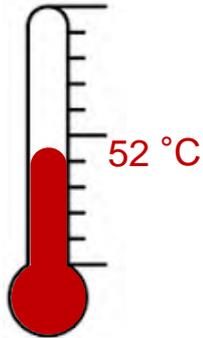
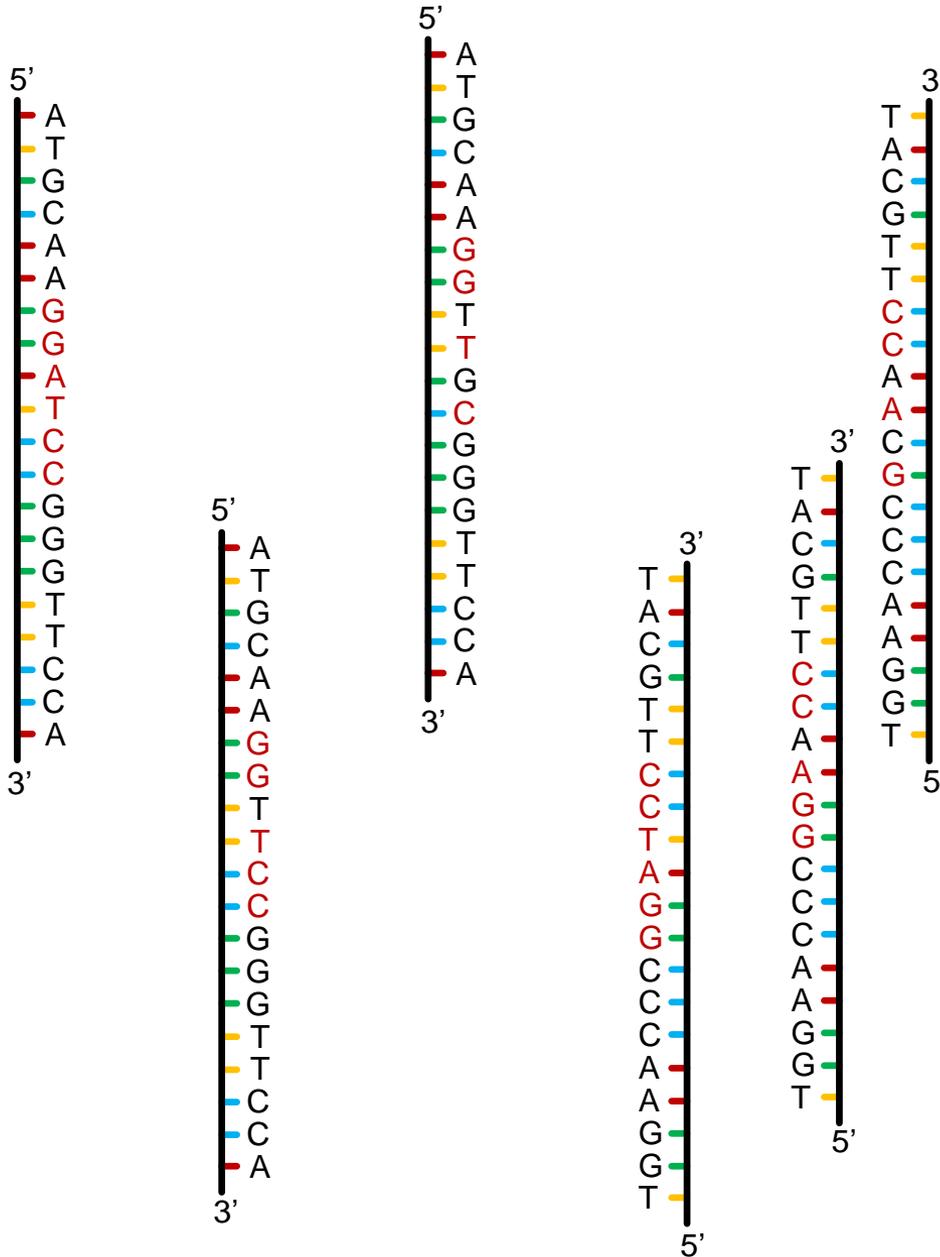
# V.3.b. Hybridization



# V.3.b. Hybridization



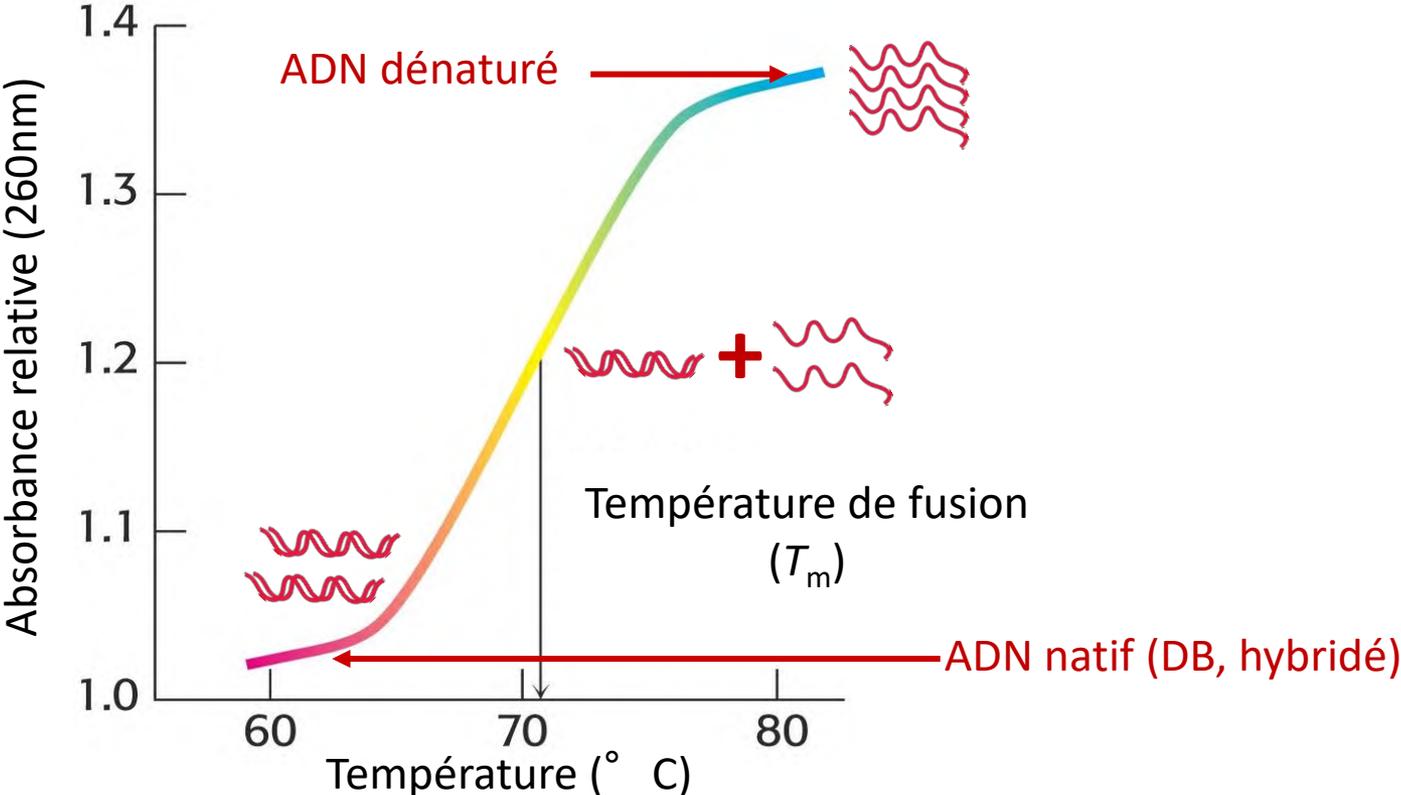
# V.3.b. Hybridization



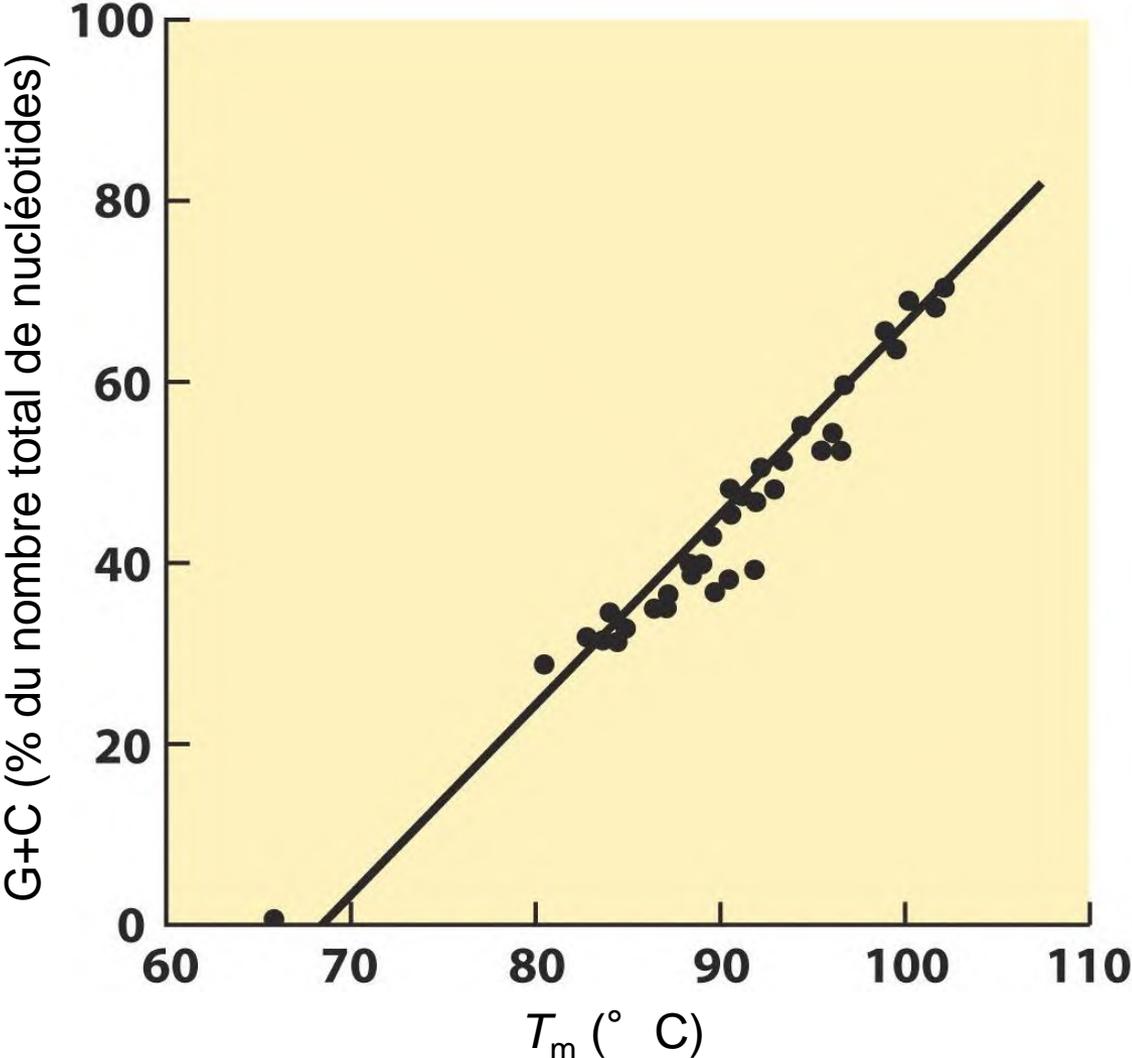
### V.3.c. Température de fusion

On parle alors de température de fusion ou de  $T_m$ .

$T_m$  est le point de transition où la moitié des brins sont dissociés.



### V.3.c. Température de fusion



Comme il y a 3 liaisons H entre G et C et seulement 2 entre A et T, plus le taux en G≡C est élevé plus T<sub>m</sub> est élevée

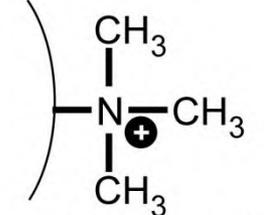
## V.3.b. Hybridation

<https://app.jove.com/science-education/v/10819/pcr-polymerase-chain-reaction-and-taq-polymerase>

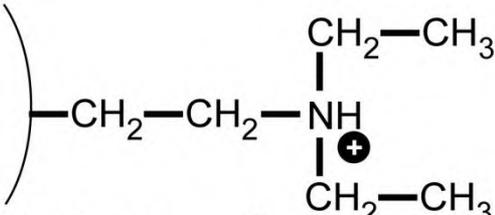
# V.4. fractionner les acides nucléiques

## V.4.a. Par chromatographie échangeuse d'ions

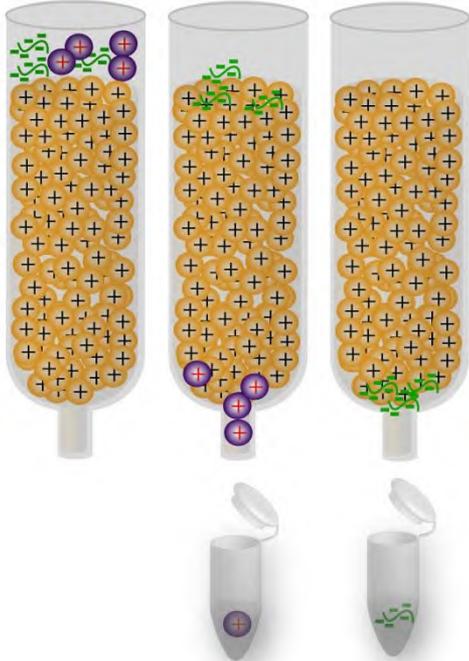
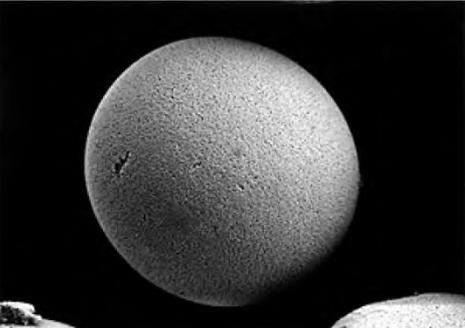
Les acides nucléiques **sont tous chargés négativement** à pH physiologique, ce sont des **polyanions**. On peut les purifier sur une **colonne échangeuse d'anions**:



Ammonium IVaire (monoQ)



DiÉthylAminoÉthyl (DEAE)

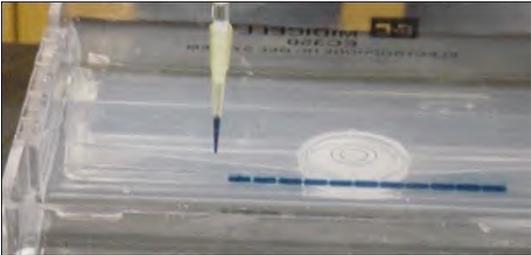


## V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide

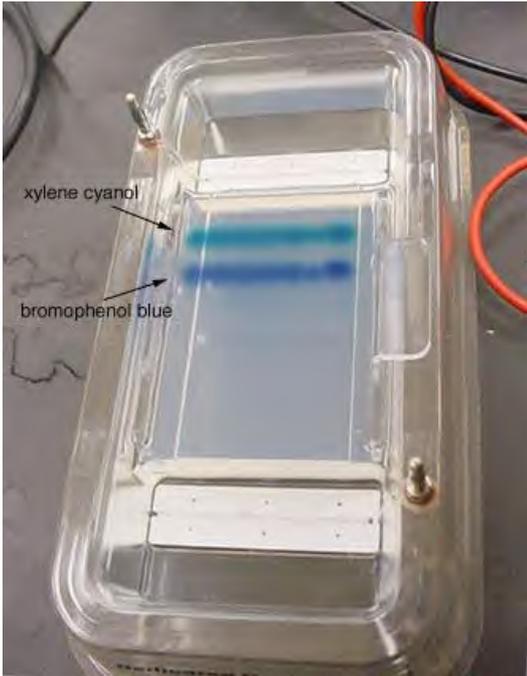
L' **électrophorèse** est la séparation dans un champ électrique, les acides nucléiques (ANiques) étant des polyanions ils migreront tous vers l' électrode chargée positivement = l' anode. Elle se fait dans un gel, donc dans un support semi-liquide, semi-solide. Ce gel peut être assimilé à un réseau de mailles qui séparera les ANiques en fonction de leurs tailles. En effet dans une électrophorèse la migration des biomolécules dépend de 2 facteurs: la **charge** et la **taille**; or le nombre de charges portées par les différents ANiques est proportionnel à leurs tailles, il s' en suit que pour tous les ANiques quelque soit leur taille, le rapport (**Taille de l'ANique / nombre de charges qu' il porte**) est identique. La séparation dans le champ électrique ne dépendra donc pas du nombre de charges portées par l' ANique mais **uniquement de sa taille**. Les longues molécules d' ANiques étant plus gênées dans leur progression dans le gel à cause des mailles que les petites elles migreront moins loin. C' est pourquoi les molécules d' ANiques sont séparées en fonction de leur taille; des plus grandes au sommet du gel (**du côté de la cathode**) vers les plus petites au bas du gel (**du côté de l' anode**).

# V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide

Dépôt



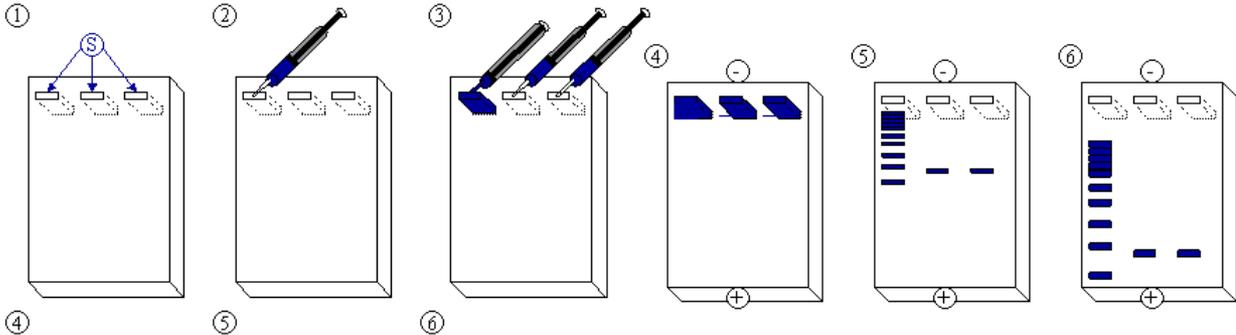
Electrophorèse



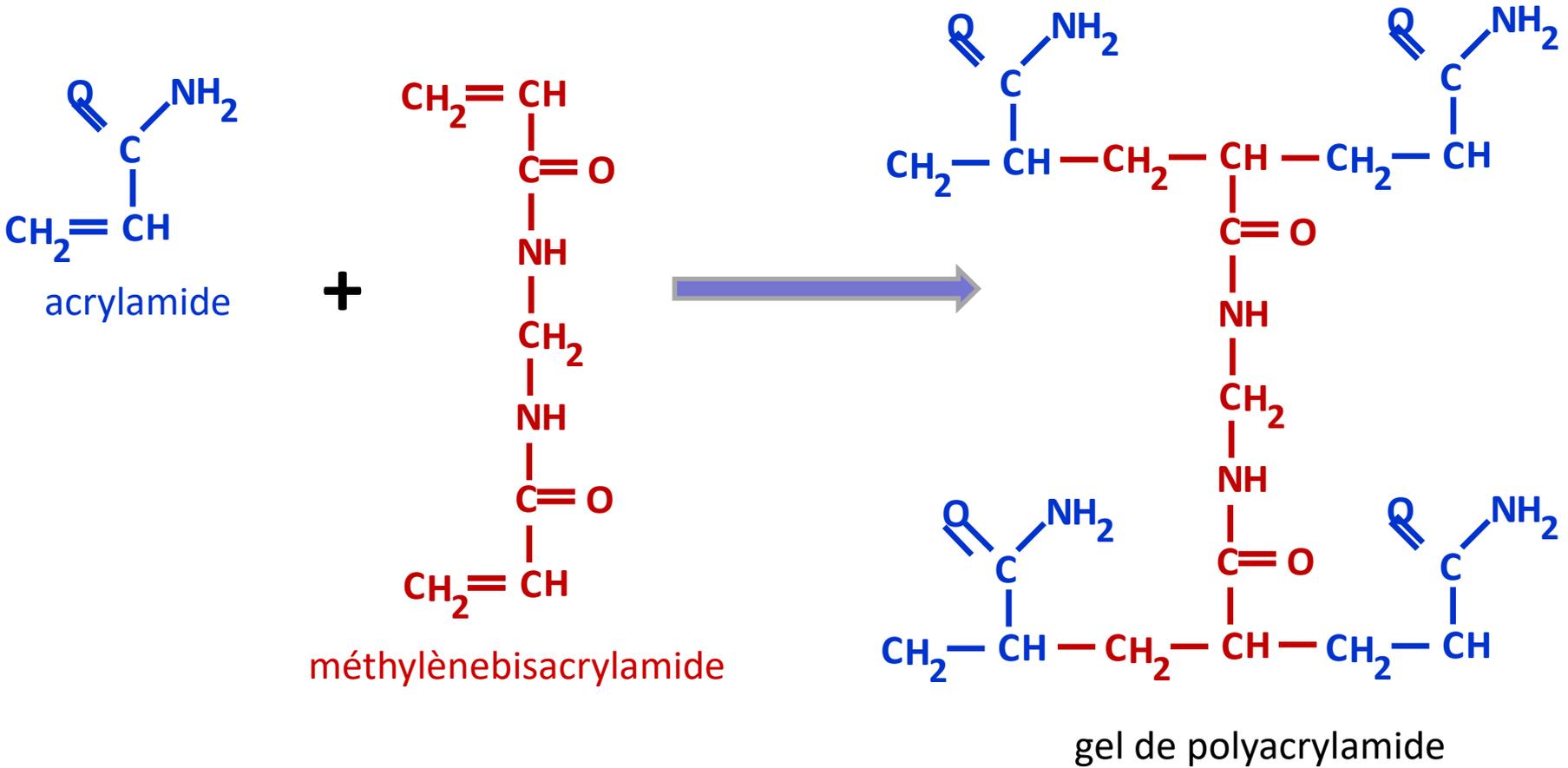
Analyse



Les acides nucléiques sont visualisés sous UV grâce à un colorant phosphorescent le bromure d' éthidium qui s' intercale entre les plateaux de bases

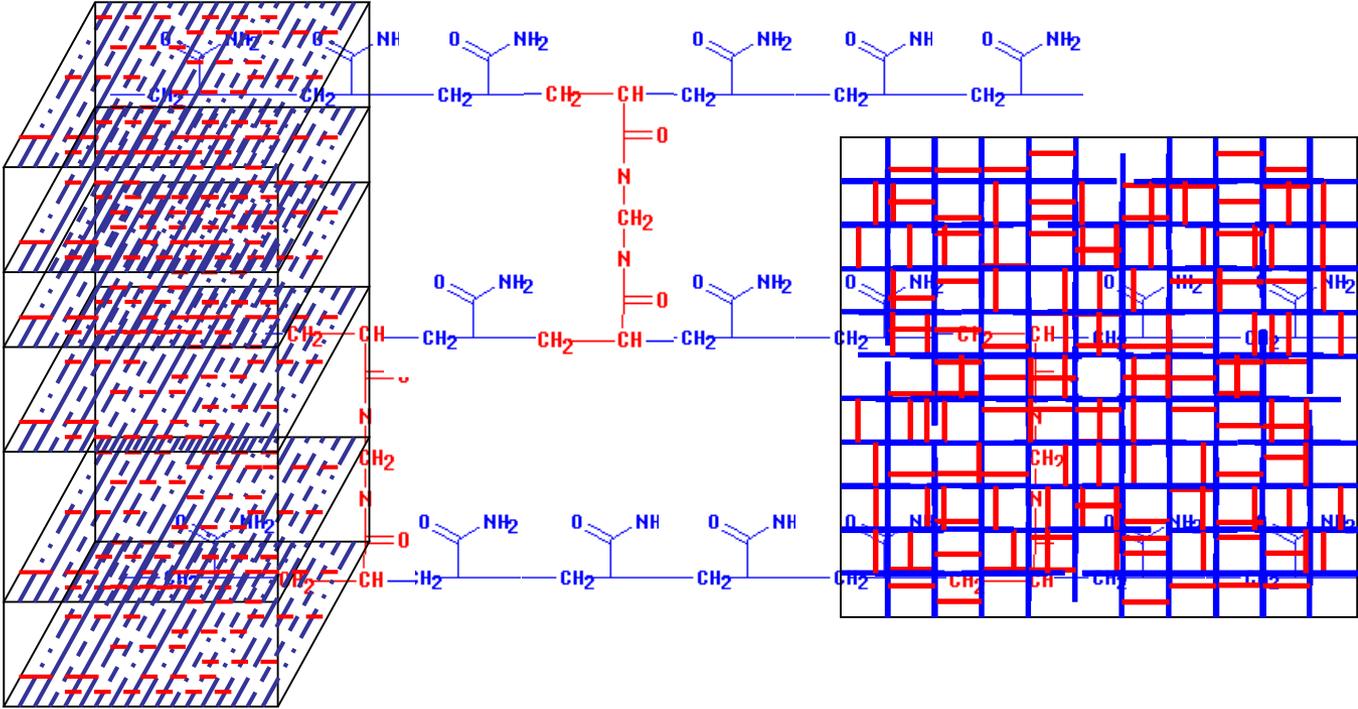


V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide



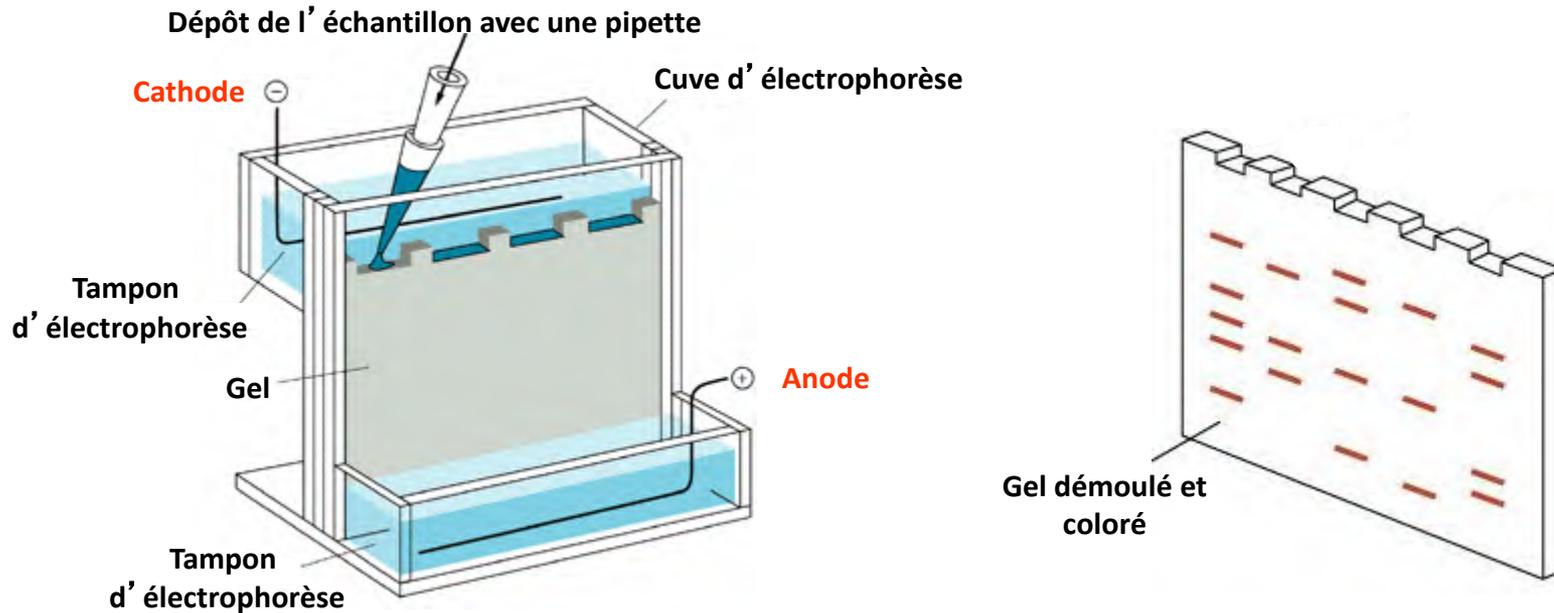
Les chaînes d' acrylamide sont pontées par la bisacrylamide.

# V.4.b. Par électrophorèse en gel d' agarose ou d' acrylamide



La porosité du gel dépend de la quantité d' acrylamide et du rapport:  $\frac{\text{bisacrylamide}}{\text{acrylamide}}$

## V.4.b. Par électrophorèse en gel d'agarose ou d'acrylamide



Sur gel de polyacrylamide 2 conditions d'électrophorèse peuvent être utilisées:

- en conditions natives
- en conditions dissociantes (+ urée = rompt les liaisons H)

# VI. Les gènes et le clonage

VI.1 Les gènes chez les procaryotes

VI.2. Les gènes chez les eucaryotes

VI.3. Le clonage

# VI. Les gènes et le Clonage

## VI.1. Les gènes chez les procaryotes

Chez les procaryotes il n'y a pas d'introns.

Mais les gènes peuvent être organisés sous forme d'opérons: 2 ou plusieurs gènes forment un opéron lorsqu'ils sont sous la dépendance du même promoteur, ils sont donc transcrits sous forme d'un transcrit unique portant les 2 (ou plus) phases codantes.



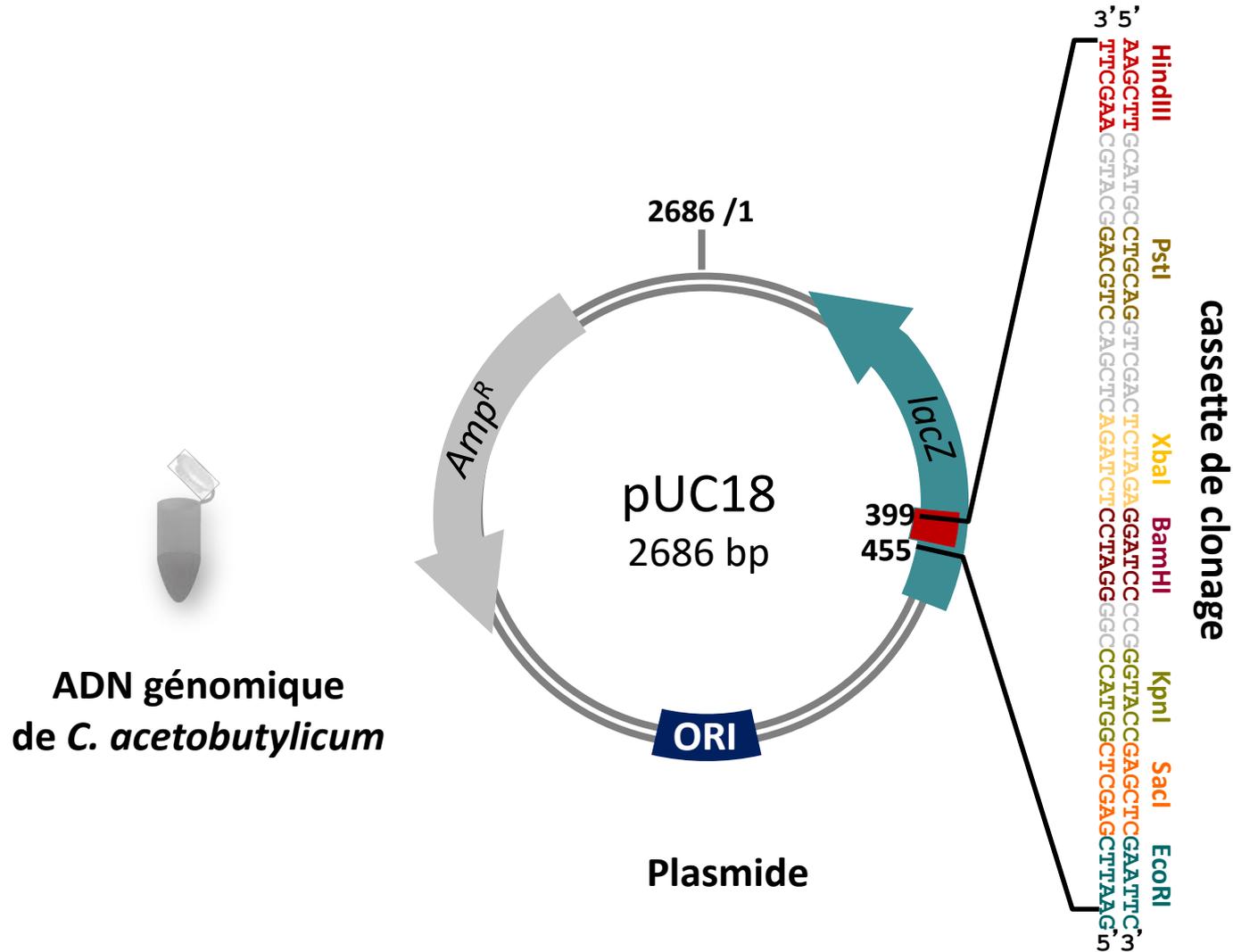
## VI.2. Les gènes chez les eucaryotes

Chez les eucaryotes il y a des introns: ce sont des séquences non codantes interrompant la séquence codante qui est donc morcelée en exons. L'ensemble du gène (introns + exons) est transcrit sous forme d'un ARN appelé préARNm qui sera maturé pour donner l'ARNm. Une des étapes de maturation est l'épissage des introns.



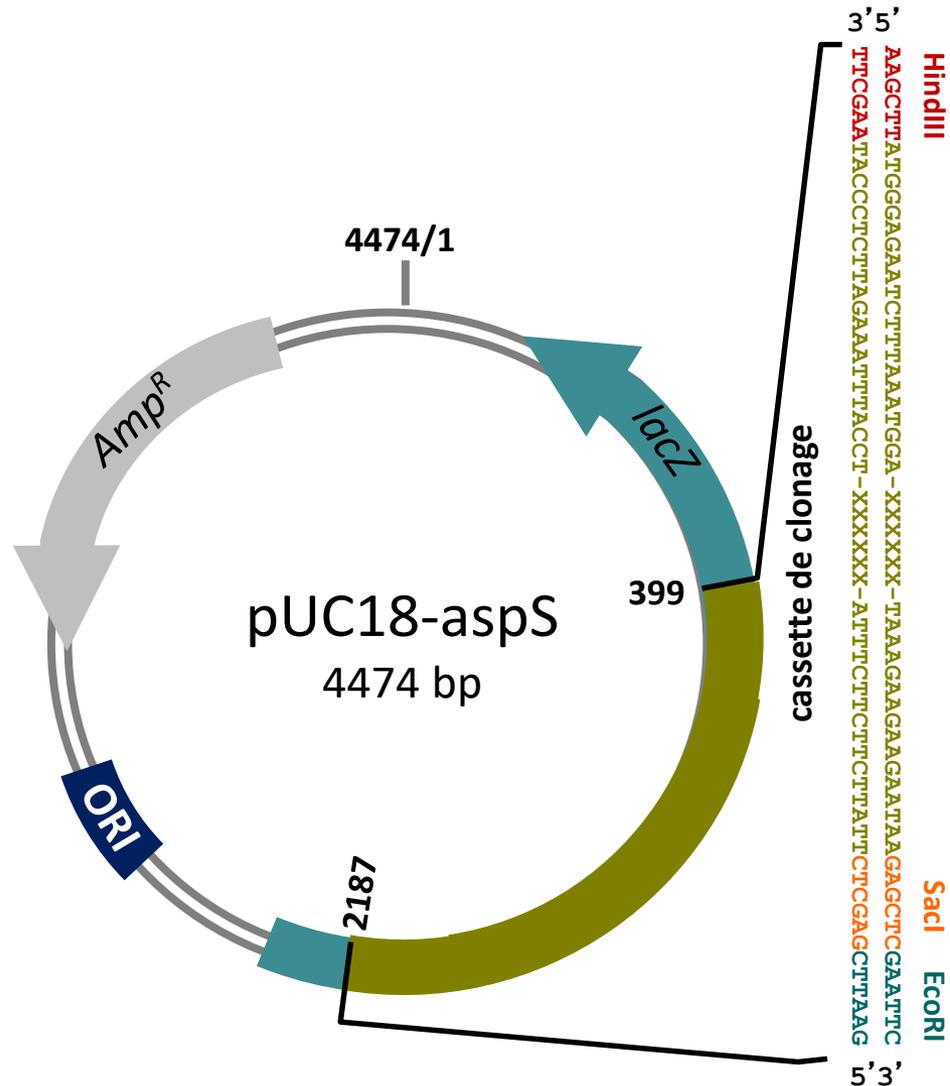
## VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*



## VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*



# VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

<http://cmr.jcvi.org/tigr-scripts/CMR/CmrHomePage.cgi>

The screenshot shows the homepage of the Comprehensive Microbial Resource (CMR). At the top, there is a search bar with 'Locus' selected and a 'Go' button. Below the search bar are navigation tabs: Home, Genome Tools, Searches, Comparative Tools, Lists, Downloads, and Carts. A secondary menu includes CMR Manual, CMR FAQ, CMR Tutorial, and Links.

The main content area is titled 'Welcome to the Comprehensive Microbial Resource'. It contains a paragraph describing the CMR as a free website for displaying publicly available, complete prokaryotic genomes. Below this is the 'CMR Menu Bar Tools' section, which lists various tools and resources available on the site, such as Genome Tools, Searches, Comparative Tools, Lists, Downloads, and Carts.

On the left side, there is a 'Genome Search' section with a search box for 'Organism name'. Below it is a 'Genome List' section with a 'View All CMR Genomes' button. Further down is a 'Gene Search' section with options for 'Search by:' (Locus, Match) and 'Keywords/Accession:'. A 'Data Summary' table is also present, showing the number of complete, draft, and total genomes for Bacteria, Archaea, and Viruses.

On the right side, there is an 'Announcements' box containing 'Recent News' (January 21, 2010) and 'Latest Releases' (March 31, 2009).

This screenshot shows the 'All Genomes' page on the CMR website. At the top, there is a search bar and navigation tabs. Below the navigation is a 'Download' button. The main content area is titled 'Genomes: All Genomes' and displays a summary of the total number of genomes (723) and their distribution by kingdom and completeness.

The summary text reads: '723 Total Genomes', '659 Complete, 64 Incomplete', '0 Eukarya, 48 Archaea, 672 Bacteria, 3 Viruses'. Below this is a legend: '[G] = GenBank FTP', '[T] = JCVI FTP', '[S] = Sequencing Center Genome Page', '[N] = NCBI Genome Page', '[P] = Publication'.

The main part of the page is a table with the following columns: Organism Name (sort), Kingdom (sort), Taxon ID (sort), Size (sort), Complete Genome (sort), Sequencing Center (sort), and Links (sort). The table lists various bacterial genomes, including *Acarvochloris marina*, *Acholeplasma laidlawii*, *Acidiphilium cryptum*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidobacteria bacterium Ellin345*, *Acidothermus cellulolyticus*, *Acidovorax avenae subsp. citrulli*, *Acidovorax sp. JS42*, *Acinetobacter radioresistens*, and *Acinetobacter sp. ADP1*.

Organism Name (sort)	Kingdom (sort)	Taxon ID (sort)	Size (sort)	Complete Genome (sort)	Sequencing Center (sort)	Links (sort)
<a href="#">Acarvochloris marina MB1C11017</a>	Bacteria	<a href="#">329726</a>	8.36 Mb	Yes	<a href="#">TGen Washington Univ Arizona State Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acholeplasma laidlawii PG-8A</a>	Bacteria	<a href="#">441768</a>	1.49 Mb	Yes	<a href="#">RIPCM</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidiphilium cryptum JF-5</a>	Bacteria	<a href="#">349163</a>	3.96 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidithiobacillus ferrooxidans ATCC 23270</a>	Bacteria	<a href="#">243159</a>	2.98 Mb	Yes	<a href="#">J. Craig Venter Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidobacteria bacterium Ellin345</a>	Bacteria	<a href="#">204669</a>	5.65 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidothermus cellulolyticus 11B</a>	Bacteria	<a href="#">351607</a>	2.44 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidovorax avenae subsp. citrulli AAC00-1-0</a>	Bacteria	<a href="#">397945</a>	5.35 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acidovorax sp. JS42</a>	Bacteria	<a href="#">232721</a>	4.58 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acinetobacter radioresistens SK82</a>	Bacteria	<a href="#">596318</a>	3.28 Mb	No	<a href="#">J. Craig Venter Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>
<a href="#">Acinetobacter sp. ADP1</a>	Bacteria	<a href="#">62977</a>	3.59 Mb	Yes	<a href="#">Genoscope</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[N]</a> <a href="#">[P]</a>

# VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

<a href="#">Chlamydia trachomatis L2b/UCh-1/proctitis</a>	Bacteria	<a href="#">471473</a>	1.03 Mb	Yes	<a href="#">Sanger Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlamydia trachomatis serovar D</a>	Bacteria	<a href="#">315277</a>	1.04 Mb	Yes	<a href="#">Stanford Univ Univ of California, Berkeley</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlamydomophila abortus S26 3</a>	Bacteria	<a href="#">218497</a>	1.14 Mb	Yes	<a href="#">Sanger Institute Moredun Res Inst Scottish Crop Research Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlamydomophila caviae GPIC</a>	Bacteria	<a href="#">227941</a>	1.18 Mb	Yes	<a href="#">J. Craig Venter Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlamydomophila felis Fe/C-56</a>	Bacteria	<a href="#">264202</a>	1.17 Mb	Yes	<a href="#">Yamauchi Univ Kitasato Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlorobium chlorochromatii CaD3</a>	Bacteria	<a href="#">340177</a>	2.57 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute Penn State Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chlorobium tepidum TLS</a>	Bacteria	<a href="#">194439</a>	2.15 Mb	Yes	<a href="#">J. Craig Venter Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chromobacterium violaceum ATCC12472</a>	Bacteria	<a href="#">243365</a>	4.75 Mb	Yes	<a href="#">Brazilian Genome</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Chromohalobacter salexigens DSM 3043</a>	Bacteria	<a href="#">290398</a>	3.69 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute Hiram College Purdue Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Citricella sp. SE45</a>	Bacteria	<a href="#">501479</a>	5.52 Mb	No	<a href="#">J. Craig Venter Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Citrobacter koseri ATCC BAA-895</a>	Bacteria	<a href="#">290338</a>	4.73 Mb	Yes	<a href="#">Washington Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis NCPPB 382</a>	Bacteria	<a href="#">443906</a>	3.39 Mb	Yes	<a href="#">Bielefeld Univ</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus</a>	Bacteria	<a href="#">31964</a>	3.40 Mb	Yes	<a href="#">Sanger Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium acetobutylicum ATCC824</a>	Bacteria	<a href="#">272562</a>	4.13 Mb	Yes	<a href="#">Genome Therapeutics</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium beijerinckii NCIMB 6052</a>	Bacteria	<a href="#">290402</a>	6.00 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute Univ of Illinois</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium botulinum A ATCC 19397</a>	Bacteria	<a href="#">441770</a>	3.86 Mb	Yes	<a href="#">Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium botulinum A Hall</a>	Bacteria	<a href="#">441771</a>	3.76 Mb	Yes	<a href="#">Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium botulinum A2 Kyoto</a>	Bacteria	<a href="#">536232</a>	4.15 Mb	Yes	<a href="#">Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium botulinum A3 strain Loch Maree</a>	Bacteria	<a href="#">498214</a>	4.25 Mb	Yes	<a href="#">Los Alamos National Laboratory DOE Joint Genome Institute</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>
<a href="#">Clostridium botulinum B Eklund 17B</a>	Bacteria	<a href="#">508765</a>	3.84 Mb	Yes	<a href="#">DOE Joint Genome Institute Los Alamos National Laboratory</a>	<a href="#">[G]</a> <a href="#">[T]</a> <a href="#">[S]</a> <a href="#">[NI]</a> <a href="#">[PI]</a>

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search Locus for [GO]

Home Genome Tools Searches Comparative Tools **Lists** Downloads Carts

CMR Manual Home > [Clostridium acetobutylicum ATCC824 Genome Page](#) [Clostridium acetobutylicum ATCC824](#)

## Clostridium acetobutylicum ATCC824 Genome Page

Gene Search

Search by: Locus Match: Exact Inexact

Keywords/Accession: [Search]

Region View

Molecule: Chromosome C.acetobutylicu

Coordinates: [Search]

Sequence Retrieval

Molecule: Chromosome C.acetobutylicu

Coordinates: [Search]

Strand: Forward Reverse

**General Information for *Clostridium acetobutylicum* ATCC824**

Sequencing Center: [Genome Therapeutics](#)

Funding Center: [DOE](#)

Publication: [PubMed Abstract](#)

Sequence & Annotation Acquisition: [CMR Batch Download](#)

[CMR Gene Attribute Download](#)

[GenBank FTP Download](#)

Other: [Sequencing Center Genome Page](#)

[Background Information](#)

[Integrated Microbial Genomes](#)

Completed Genome: Yes

CMR Version Number: Version 9.0

Date added to the CMR: December 11, 2002

GenBank Accession.Version: [AE001437.1 AE001438.3](#)

Genome Properties: [View All Properties](#)

**Statistics for *Clostridium acetobutylicum* ATCC824**

**DNA Molecule Summary**

Total Number of all DNA molecules:	2	100.00%
Total Size of all DNA molecules:	4132880 bp	100.00%
Number of Primary Annotation coding bases:	3534097 bp	85.51%
Number of JCVI Annotation coding bases:	3573613 bp	86.46%
Number of G+C bases:	1278098 bp	30.92%

**Primary Annotation Summary**

Total genes:	3848	100.00%
Protein coding genes:	3848	100.00%
Genes assigned a role category:	2886	75.5%
Genes not assigned a role category:	346	8.99%
Conserved hypothetical genes:	575	14.94%
Hypothetical genes:	41	1.06%

# VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search Locus for Go

Home Genome Tools Searches Comparative Tools Lists Downloads Carts

CMR Manual | Home > Lists > Role Category Lists

## Role Category Lists

Download

- Amino acid biosynthesis
- Biosynthesis of cofactors, prosthetic groups, and carriers
- Cell envelope
- Cellular processes
- Central intermediary metabolism
- DNA metabolism
- Disrupted reading frame
- Energy metabolism
- Fatty acid and phospholipid metabolism
- Hypothetical proteins
- Mobile and extrachromosomal element functions
- Protein fate
- Protein synthesis
- Purines, pyrimidines, nucleosides, and nucleotides
- Regulatory functions
- Signal transduction
- Transcription
- Transport and binding proteins

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search Locus for Go

Home Genome Tools Searches Comparative Tools Lists Downloads Carts

CMR Manual | Home > Lists > Role Category Lists > Role Category Search

## Role Category Search: Protein synthesis

1. Please select the genome(s) you want to search:

Search List Show All Tree View

- Citrobacter koseri ATCC BAA-895
- Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis NCPPB 382
- Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus
- Clostridium acetobutylicum ATCC824**
- Clostridium beijerinckii NCIMB 8052
- Clostridium botulinum A ATCC 19397
- Clostridium botulinum A Hall
- Clostridium botulinum A2 Kyoto

Add All Genome Cart Genomes >>

Add >>

<< Remove

Clostridium acetobutylicum ATCC824

Tip: Double-click to add directly, or use ctrl to select multiple entries at once before clicking on the add button.

2. Please select your annotation type:

Primary Annotation (Default)

3. Hit the "Submit" button to get your results:

Submit

Reset

# VI.3. Clonage d' un gène de bactérie


Comprehensive Microbial Resource
Search  Locus  for

[Home](#) | [Genome Tools](#) | [Searches](#) | [Comparative Tools](#) | [Lists](#) | [Downloads](#) | [Carts](#)

[CMR Manual](#) | [Home > Lists > Role Category Lists > Role Category Search > Role Category Search Results](#)

## Role Category Search Report

Selected Organism: *Clostridium acetobutylicum* ATCC824  
 Selected Annotation: Primary Annotation  
 Selected Main Role: Protein synthesis  
 Selected Sub Role: tRNA aminoacylation

1 - 35 of 35 results

Cart	Locus	Gene Symbol	Common Name	EC Number	5' End	3' End	DNA molecule
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0017</a>	serS	Seryl-tRNA synthetase		24976	26253	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0021</a>	serS	Seryl-tRNA synthetase (serine-tRNA ligase)		30670	31944	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0609</a>		Cyclic beta 1-2 glucan synthetase		706105	714717	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0626</a>	trpS	Tryptophan-tRNA synthetase, trpS		728417	729448	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0637</a>	tyrS	Tyrosyl-tRNA synthetase		741074	742297	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0646</a>	leuS	Leucyl-tRNA synthetase		753750	751312	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0780</a>	tyrZ	Tyrosyl-tRNA synthetase		903118	904320	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0935</a>	hisZ	Histidyl-tRNA synthetase		1076406	1077629	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC0990</a>	glxX	Glutamyl-tRNA synthetase		1138618	1137161	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC1041</a>	argS	Arginyl-tRNA synthetase		1191581	1193272	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC1678</a>	alaS	Alanyl-tRNA synthetase		1827028	1829673	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC1723</a>	met	Methionyl-tRNA formyltransferase		1872002	1872934	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2269</a>	aspS	Aspartyl-tRNA synthetase		2373519	2371732	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2273</a>		Uncharacterized protein YihZ family		2376145	2375696	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2356</a>	pheT	Phenylalanyl-tRNA synthetase (beta subunit)		2468046	2465668	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2357</a>	pheS	Phenylalanyl-tRNA synthetase (alpha subunit)		2469087	2468068	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2362</a>	thrS	Threonyl-tRNA synthetase		2473509	2471596	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2399</a>	vals	Valyl-tRNA synthetase		2510811	2508166	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2669</a>		Glu-tRNA <sup>Gln</sup> amidotransferase subunit B		2787178	2785748	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2670</a>		Glu-tRNA <sup>Gln</sup> amidotransferase subunit A		2788655	2787198	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2671</a>		Glu-tRNA <sup>Gln</sup> amidotransferase subunit C		2788976	2788677	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2740</a>	hisS	Histidyl-tRNA synthetase		2868987	2867695	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2976</a>		Glu-tRNA <sup>Gln</sup> amidotransferase subunit B		3112927	3111491	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2977</a>	gatA	Glutamyl-tRNA <sup>Gln</sup> amidotransferase subunit A		3114367	3112931	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2978</a>	gatC	Glu-tRNA amidotransferase, subunit C		3114675	3114382	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2979</a>	aspS	Aspartyl-tRNA synthetase		3116010	3114718	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC2991</a>	metS	Methionyl-tRNA synthetase		3129544	3127610	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC3038</a>	ileS	Isoleucyl-tRNA synthetase		3188062	3184955	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
<input type="checkbox"/>	<a href="#">CAC3177</a>	cysS	Cysteinyl-tRNA synthetase		3314230	3312836	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824

# VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

JCVI CMR Comprehensive Microbial Resource

Search  for

Home Genome Tools Searches Comparative Tools Lists Downloads Carts

CMR Manual | Home > Genome Tools > Gene Page CAC2269/NT01CA2499

- Primary Annotation
- Primary Sequences**
- JCVI Annotation
- JCVI Sequences
- Gene Graphic
- Gene Codon Count
- Protein vs. All Alignment
- TmHMM Information
- TIGRFAM & Pfam Matches
- Secondary Structure
- Related Links
- Gene Ontology (GO)Display

### Primary Annotation Display: CAC2269 ⓘ

Primary Locus: CAC2269 | JCVI Locus: NT01CA2499 | UniProt AC: Q97GU6 | MPIDB AC: None | GenBank ID: AAK80226.1

Function: Aspartyl-tRNA synthetase

Locus Name	CAC2269
Putative identification	Aspartyl-tRNA synthetase
Gene Symbol	aspS
Coordinates	2373519-2371732
DNA Molecule Name	Chromosome C.acetobutylicum ATCC:824
Gene length	1788
Protein length	595
Molecular Weight	68243.31
pI	4.9567
% GC	34.50
JCVI Cellular Role Category	Protein synthesis: tRNA aminoacylation
Gene Ontology (GO) Role Category	GO:0004815: molecular_function, aspartate-tRNA ligase activity
Gene Ontology (GO) Role Category	GO:0006422: biological_process, aspartyl-tRNA aminoacylation

# VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

CMR Manual | Home > Genome Tools > Gene Page CAC2269/NT01CA2499

Primary Annotation

Primary Sequences

JCVI Annotation

JCVI Sequences

Gene Graphic

Gene Codon Count

Protein vs. All Alignment

TmHMM Information

TIGRFAM & Pfam Matches

Secondary Structure

Related Links

Gene Ontology (GO) Display

Third Position GC Skew

COG Display

Genome Region Comparison

Region View

Primer Search

## Primary Annotation Sequence Display: CAC2269

Download

Primary Locus: CAC2269 | JCVI Locus: NT01CA2499 | UniProt AC: Q97GU6 | MPIDB AC: None | GenBank ID: AAK80226.1  
Function: Aspartyl-tRNA synthetase

```
>CAC2269
ATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCATATGTGTGGAGAAATAAGAGAGAAC
CATATTGGAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCCAGAGAAAAAGAAATCTTGGAGGG
TTAGTATTCTAGATTAAAGAGATAGAGAAGGTATACTCAAGTAGTTTTGGAGAGAGAA
ATATAAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATATTGTATTTCAGTT
TCTGGAACCTTAGTCAAGAGAGAATCGCCAAACCCAAATATGCCAACAGGAATGGTGGAA
CTAAAGGGCGAAGAAATAAAAAATTTGTCAGAAAGTGAGACACCCTATTACATAAAAA
GAAAATCTGTGCTGCTGAAAATATAAGACTCAGATATAGATATCTGTGCTTAGAAGA
CCAGATATGCAGAAAATTTTAAAGATAAGACATAAGACTACAAAAATAAATAGGGATTTC
ATGGATGAAGAGAACTTCTTGAATGGAGACACCTATACTTACTAAGAGTACACCAGAA
GGTGCAAGGGACTATTGGTCCCAAGCAGAAAATATAATGGAAAAATTTATGCACTCCA
CAGTCACCACAGTTATTAAAGCAGCTTTTAAATGGTTCTGGATACGATAAATATTTCAA
ATAGCAAAGTGCTTTAGAGACGAGGATTTAAGGGCTAATAGGCAGCCAGAGTTTACACAA
GTAGATATGGAAATGCTATTGTAGAAGAAGATGATGTAATAGAATTAATGAAAGACTT
ATACAGAAGGTATTAAAGSAAATGCCGGAGTAGAGGTTAAACTTCCAATAGAGAGAATG
ACTTGGAAAATCGCTATGGAAAAGTACGGTTCCGGATAAACCGGATTTAAGATTTGGTATG
GAAATCAATGATATAAGTGAGGCTGTAAGTACTCAGATTTTAAAGTATTAAGTCAGCC
ATAGAAGAAGGCGGAAAGTGTAGAGCAATTAAGCACCAAATCTGCAGATATGCCTAGA
AAGAAGATAGATAAGTTAGGGGAGTTTGTAAAACTTACAAAGCAAAGGTTAGCATGG
ATAGCATTAAAAGAAGATGGAATAAAATCACCTATTGCAAAGTTTTAAAAGAGGAAGAA
TTAAAGGCATAAATCGACAAAGTTCAAGGGAAAACAGGAGATCTTATACTTATAGTAGCA
GATAAAAAATCTGTGTATTCCAGTCATTAGGAGCACTTAGATTAGAGATTGCAAAGGAA
CTCGAAATTTTAAAGGATAATAAAGAAATTTAGATTTGTTGGATTACCGAATCCCACATA
TTATCATACAATGAGGAAGAAGAAAGATTTCAAGCTGAACATCATCCATTTACAATGCCT
ATGGATGAAGATATAGAATATCTTGAATCTGATCCGGGAAGAGTAGGGCTAAGGCATAT
GATATAGTTTTAAATGGAGAAGAGCTGGAGGAGGAAGTGTAGAATTCATGATACTGCA
CTTCAAGAAAGAAATGTTCAAGGTTCTTGGTTTTTCAAAAGGAATCAGCCCTGGGAAAGATT
AGTTTTCTACTAGAAGCATTAAAGTTTGGGCCACCACCACATGCTGGTCTTGCTTATGGA
TTAGATAGACTTATAATGTTCTTGCAGGTAAGTAAAACATCAAGGACGTAATAGCCCTC
CTAAAATCAAAATGCAATCTGTCTCTTACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAAT
CAGATTGAGGAGCTTGAATAAAAATGAAAGTAAAGAAGAATAA
```

```
>CAC2269
MGE SLNGLKRTIMCGEIRENHI GNRVVMGWVQRKRLGGLVFDLRDREGILQVVFGE
INKDAFMKADLVKSEYICISVSGTLVKRESPNPNMPTGMVELKGEI KILSESETPPIYIK
ENLDAENIRLRYYLDLRRPDMQIKI FKHHTKIIRD FMD EENFLEMETPILTKSTPE
GARDYLVPSRNYNGKFPALPQSPQLFKQLLMVSGVDKYFQIAKCFRDEDLRANRQPEFTQ
VDMEMSFVEEDDVI ELNERLIQKVFKEMAGVEVKLPIERMWKTAMEKYGSDKPD LRFGM
EINDISEAVSTSDFKVFKSAIEEGGSVRAIKAPNSADMPRKKIDKLGFEVTKYKARGLAW
IALKEDGKSPKIAKFLKEELKAIIDKVQKGTGDLILIVADKNSVVFQSLGALRLEIAKE
LEILKDNKEFRFVWITEFPLLSYN EEEERFQAEHPFTMPMDEIDIEYLEDSPGRVRAKAY
DIVLNGEELGGG SVR IHD TALQERMFKVLGFTKESAWERF SFLEAFKFGPPPHAGLAYG
LDRLIMFLAGTENIKDVIAFPKNQNAFCPLTEAPNVVDENQIEELGIRKVESKEE
```

# VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

aspS Cac ape.str

Fichier Édition enzymes ORFs Dispositifs Outils fenêtre Aide

Enregi Ordre début longueur Extrémité ORF Tm %GC linear

1788 1<0> 1788<0> 1788<2> M\* --- 35%  Dam/Dcm

1 AGAGATAGAGAAGGTATACTTCAAGTAGTTTTGGAGAAGAAATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCG  
 70 GATTTAGTTAAATCAGAATATTGTATTTTCAGITTTCTGGAACTTTAGTCAAGAGAGAATCGCCAAACCCA  
 139 AATATGCCAACAGGAATGGTGGAACTAAAGGGCGAAGAAATAAAAATATTGT CAGAAAAGTGAGACACCA  
 208 CCTATTTACATAAAAAGAAAATCTTGATGCTGCTGAAAATATAAGACTCAGATATAGATATCTTGATCTT  
 277 AGAAGACCAGATATGCAGAAAATTTTTAAGATAAGACATAAAGACTACAAAATAAATAAGGGATTTCAATG  
 346 GATGAAGAGAAGTCTCTTGAATGGAGACACCTATACTTACTAAGAGTACACCCAGAAGTGCARGGGAC  
 415 TATTTGGTTCCAAGCAGAAAATATAATGGAAAATTTTTATGCATTTCCACAGTCAACACAGTATTTAAAG  
 484 CAGCTTTTTAATGGTTCTGGATACGATAAAATTTTTCAAATAGCAAAGTGCCTTAGAGACGAGGATTTA  
 553 AGGGCTAATAGCGACCCAGAGTTTACACAAGTAGATATGGAAAATGTCATTTGTAGAAGAAGATGATGTA  
 622 ATAGAATTAATGAAGACTTTATACAGAAGGTTTAAAGAAAATGGCGGGAGTAGAGGTTAAACTTCCA  
 691 ATAGAGAGAATGACTTGGAAAACCTCTATGGAAAAGTACGGTTCCGGATAAACCGGATTTAAGATTTGGI  
 760 ATGGAAATCAATGATATAAGTGAGGCTGTAAGTACTT CAGATTTTAAAGTATTTAAGTCAAGCATAGAA  
 829 GAAGCGGGAAGTGTAGAGCAATTAAGCACCAAAATTTGCAGATATGCCTAGAAAAGAGATAGATAAG  
 898 TTAGGGGAGTTTGTAAAACCTTACAAAAGCAAAGTTTACGATGGATAGCATTAAAAGAAGATGGAAATA  
 967 AAATCACCTTATGCCAAAGTTTTTAAAGAGGGAAGAAATTAAGGCAATATCGCAAAAGTTCAAGGGAAA  
 1036 ACAGGAGATCTTATACTTATAGTAGCAGATAAAAATTTCTGTTGATTTCCAGTCAATAGGAGCACTTAGA  
 1105 TTAGAGATTGCAAGGAAGTCTGAAAATTTTTAAAGGATAATAAAGAATTTAGATTTGTTTGGATTACCGAA  
 1174 TTCCCACTTATATCATACAAATGAGGAGAAGAAAGATTTCAAGCTGAACATCATCCATTTACAAATGCC  
 1243 ATGGATGAAGATATAGAATATCTTGAATCTGATCCGGGAAGAGTAAAGGGCTAAGGCATATGATATAGTT  
 1312 TTAATGGAGAAGAGCTTGGAGGAGGAAGTGTAGAATTCATGATACTGCACCTTCAAGAAAAGAAATGTC  
 1381 AAGTTCCTTGGTTTTACAAAAGAAATCAAGCTGGGAAAGATTTAGTTTTCTACTAGAAGCATTTAAGTTT  
 1450 GGGCCACCACCATGCTGGTCTTGTATGGATTAGATAGACTTATAATGTCCTTGCAGGTAAGTGA  
 1519 AACATCAAGGAGCTAATAGCCTTCCCTAAAATCAAAATGCATTTCTGCTCTTACAGAGGCTGCTAAT  
 1588 GTTGTAGATTGAAAATCAGATTGAGGAGCTTGGAAATAAAAGTTGAAAGTAAAAGAAGAATAA

choix d'enzymes...

Fichier enzymes liste

fenêtre aspS Cac ape.str Selection: 1 - 1788  Dam/Dcm

AatII (0)	BamHI (0)	BspHI (1)	DrdI (0)	Hpy99I (0)	NgoMIV (0)	PvuII (0)	SphI (0)
Acc65I (0)	BanII (0)	BspLU11I (0)	EagI (0)	HpyCH4III (3)	NheI (0)	RsaI (4)	SrfI (0)
AccB1I (0)	BbeI (0)	BsrGI (0)	Eam1105I (0)	HpyCH4V (9)	NlaIII (4)	RsrII (0)	SspI (3)
AccI (1)	BceAI (0)	BssHII (0)	Eco47III (0)	KasI (0)	NlaIV (3)	SacI (0)	StuI (0)
AccII (0)	BclI (0)	BstAPI (0)	EcoNI (0)	KpnI (0)	NotI (0)	SacII (0)	StyI (0)
AccIII (0)	BfmI (1)	BstBI (0)	EcoRI (2)	MaeI (2)	NruI (0)	Sall (0)	SwaI (0)
AccI (0)	BglI (0)	BstEII (0)	EcoRV (1)	MaeII (1)	NsiI (1)	SanDI (0)	TaqI (2)
AcyI (0)	BglIII (1)	BstXI (0)	FseI (0)	MboI (0)	NspI (1)	SbfI (0)	TatI (2)
AflII (0)	BipI (0)	BstZ17I (1)	FspAI (0)	MfeI (0)	OliI (0)	Scal (1)	TspEI (12)
AflIII (0)	BsaAI (0)	Bsu36I (0)	FspI (0)	MluI (0)	Pacl (0)	SduI (1)	TspGWI (0)
AgeI (0)	BsaBI (1)	BtrI (0)	HaeII (0)	MscI (0)	PfIMI (1)	RsaI (0)	Tth111I (0)
AluI (4)	BsaVI (1)	Cac8I (0)	HaeIII (1)	MseI (20)	PfoI (1)	SfiI (0)	VspI (0)
AlwNI (2)	BseRI (2)	Cfr10I (0)	HhaI (0)	MslI (0)	PmeI (0)	SfoI (0)	XbaI (0)
ApaI (0)	BseSI (0)	CfrI (0)	HincII (0)	MspA1I (0)	PmlI (0)	SgfI (0)	XcmI (0)
ApaLI (0)	BsiEI (0)	ClaI (0)	HindIII (0)	MwoI (3)	PpuMI (0)	SgrAI (0)	XhoI (0)
ApoI (8)	BsiHKA1 (1)	DpnI (3)	HpaI (0)	NaeI (0)	PshAI (0)	SmaI (0)	XhoII (1)
AscI (0)	BsiWI (0)	DraI (5)	HpaII (2)	NarI (0)	PsiI (2)	SmlI (0)	XmaI (0)
AvaI (0)	BsiYI (2)	DraII (0)	Hpy188III (8)	NcoI (0)	PstI (1)	SnaBI (0)	XmnI (1)
AvrII (0)	Bsp120I (0)	DraIII (0)	Hpy8I (3)	NdeI (1)	PvuI (0)	SpeI (0)	ZraI (0)

présent choisi d'enzymes unique (1) All Select De-select AND Effacer tous Sel to Mem

effectuez l'action carte graphique carte graphique +U Digest Met en évidence texte Fermez

**HindIII**      **PaeI**      **PstI**      **Sall**      **XbaI**      **BamHI**      **SmaI**      **KpnI**      **SacI**      **EcoRI**

5' AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTC3'  
 3' TTCGAACGTACGGACGTCAGCTGAGATCTCCTAGGGGCCCATGGCTCGAGCTTAAG5'

## VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

**HindIII** **SacI**

5' **AAGCTT**GCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCTCGAATTC3'

3' **TTCGAA**CGTACGGACGTCCAGCTGAGATCTCCTAGGGGCCCATGGCTCGAGCTTAAG5'

**HindIII** **SacI**

5' **A** CGAATTC3'

3' **TTCGA** TCGAGCTTAAG5'

**AGCTT**GCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCCCCGGGTACCGAGCT

**A**CGTACGGACGTCCAGCTGAGATCTCCTAGGGGCCCATGG**C**

## VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

5' ATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCAATTATGTGTGGAGAAATAAGAGAGAACCATATTGAAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCCAGAGAAAAAGAAATCTT  
3' TACCCTCTTAGAAATTTACCTAACCTTCGCTTGGTAATACACACCTCTTTATTCTCTCTTGGTATAACCTTTATCTCAACATCACTACCCTACCCAGGTCTCTTTTTCTTTAGAA  
GGAGGGTTAGTATTTCGTAGATTTAAGAGATAGAGAAGGTATACTTCAAGTAGTTTTTGGAGAAGAAATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATAT  
CCTCCCAATCATAAGCATCTAAATTCTCTATCTCTTCCATATGAAGTTTCATCAAAAACCTCTTCTTTATTATTCTCTACGAAAATACTTTCGCCTAAATCAATTTAGTCTTATA  
TGTATTTTCAGTTTCTGGAACCTTAGTCAAGAGAGAATCGCCAAACCCAAATATGCCAACAGGAATGGTGGAACTAAAGGGCGAAGAAATAAAAAATATTGTCAGAAAAGTGAGACA  
ACATAAAGTCAAAGACCTTGAATCAGTTCTCTTAGCGGTTTGGGTTTATACGGTTGTCCTTACCACCTTGATTTCCCGCTTCTTTATTTTTATAACAGTCTTTCACTCTGT  
CCACCTATTTACATAAAAAGAAAATCTTGATGCTGCTGAAAATATAAGACTCAGATATAGATATCTTGATCTTAGAAGACCAGATATGCAGAAAATTTTTAAGATAAGACATAAG  
GGTGGATAAATGTATTTTTCTTTTAGAACTACGACGACTTTTATATTCTGAGTCTATATCTATAGAACTAGAACTTTCTGGTCTATACGCTTTTTAAAAATTTCTATTCTGTATTCT  
ACTACAAAATAAATAAGGGATTTTCATGGATGAAGAGAATTCCTTGAATGGAGACACCTATACTTACTAAGAGTACACCAGAAGGTGCAAGGGACTATTTGGTTCCAAGCAGA  
TGATGTTTTTATTATTCCCTAAAGTACCTACTTCTCTTGAAGGAACTTTACCTCTGTGGATATGAATGATTTCTCATGTGGTCTTCCACGTTCCTGATAAAACCAAGGTTCTGTCT  
AATTATAATGGAAAATTTTTATGCACTTCCACAGTCAACCACAGTTATTTAAGCAGCTTTTAAATGGTTTCTGGATACGATAAATATTTTTCAAATAGCAAAGTGCTTTAGAGACGAG  
TTAATATTACCTTTTAAAATACGTGAAGGTGTCAGTGGTGTCAATAAATTCGTGCAAAAATACCAAAGACCTATGCTATTTATAAAAAGTTTATCGTTTTACGAAATCTCTGCTC  
GATTTAAGGGCTAATAGGCAGCCAGAGTTTACACAAGTAGATATGGAAATGTCATTTGTAGAAGAAGATGATGTAATAGAATTAATGAAAGACTTATACAGAAGGTATTTAAG  
CTAAATTCCCGATTATCCGTCGGTCTCAAATGTGTTTCATCTATACCTTTACAGTAAACATCTTCTTCTACTACATTATCTTAATTTACTTTCTGAATATGTCTTCCATAAAATTC  
GAAATGGCGGGAGTAGAGGTTAAACTTCCAATAGAGAGAATGACTTGGAAAAGTACGGTTCCGATAAACCCGATTTAAGATTTGGTATGGAAATCAATGAT  
CTTTACCGCCCTCATCTCCAATTTGAAGGTTATCTCTTACTGAACCTTTTACGATACCTTTTTCATGCCAAGCCTATTTGGCCTAAATTTCTAAACCATACTTTTAGTTACTA  
ATAAGTGAGGCTGTAAGTACTTCAGATTTTTAAAGTATTTAAGTCAAGCATAGAAGAAGGCGGAAGTGTAGAGCAATTAAGCACCATAAATTTCTGCAGATATGCCTAGAAAAGAA  
TATTCCTCCGACATTCATGAAGTCTAAAATTTTATAAATTCAGTTCGGTATCTTCTTCCGCTTCCACAATCTCGTTAATTTCTGTGGTTTAAAGACGTCTATACGGATCTTTCTTC  
ATAGATAAGTTAGGGGAGTTTGTAAAACTTACAAAGCAAAAGGTTTAGCATGGATAGCATTAAGAAGATGGAATAAAATCACCTATTGCAAAGTTTTTAAAAGAGGAAGAA  
TATCTATTCAATCCCTCAAACATTTTTGAATGTTTCGTTTTCCAAATCGTACCTATCGTAATTTTCTTCTACCTTATTTTAGTGGATAACGTTTCAAAAATTTTCTCCTTCTT  
TTAAAGGCAATAATCGACAAAGTTCAAGGGAAAACAGGAGATCTTATACTTATAGTAGCAGATAAAAATTTCTGTTGTATCCAGTCATTAGGAGCACTTAGATTAGAGATTGCA  
AATTTCCGTTATTAGCTGTTTCAAGTTCCTTTTGTCCCTTAGAATATGAATATCATCGTCTATTTTTAAGACAACATAAGGTGAGTAATCCCTCGTGAATCTAATCTCTAACGT  
AAGGAACTCGAAATTTTAAAGGATAATAAAGAAATTTAGATTTGTTTGGATTACCGAATTTCCACTATTATCATACAATGAGGAAGAAGAAAGATTTCAAGCTGAACATCATCCA  
TTCCCTTGAGCTTTAAAATTTCTATTTTCTTAAATCTAAACAAACCTAATGGCTTAAGGGTGATAATAGTATGTTACTCCTTCTTCTTCTTAAAGTTCGACTTGTAGTAGGT  
TTTACAATGCCTATGGATGAAGATATAGAATATCTTGAATCTGATCCGGGAAGAGTAAGGGCTAAGGCATATGATATAGTTTTAAATGGAGAAGAGCTTGGAGGAGGAAGTGTT  
AAATGTTACGGATACCTACTTCTATATCTTATAGAACTTAGACTAGGCCCTTCTCATTCCCGATTCCGTATACTATATCAAAATTTACCTTCTTCTCGAACCTCCTCCTCACAA  
AGAATTCATGATACTGCACCTTCAAGAAAGAATGTTCAAGGTTCTTGGTTTTACAAAGGAATCAGCCTGGGAAAGATTTAGTTTTCTACTAGAAGCATTAAAGTTTGGGCCACCA  
CTTAAAGTACTATGACGTGAAGTCTTTTCTTACAAGTTCCAAGAACCAAAATGTTTCTTAGTTCGGACCTTTCTAAATCAAAAAGATGATCTTTCGTAATTTCAAACCCGGTGGT  
CCACATGCTGGTCTTGCTTATGGATTAGATAGACTTATAATGTTTCTTGCAGGTAAGGACGTAATAGCCTTCCCTAAAAATCAAAATGCATTCTGTCTCTT  
GGTGTACGACCAGAACGAATACCTAATCTATCTGAATATTACAAGGACGTCATGACTTTTGTAGTTCTGCATTATCGGAAGGGATTTTTAGTTTTACGTAAGACAGGAGAA  
ACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAATCAGATTGAGGAGCTTGAATAAAAAGTTGAAAGTAAAGAAGAAGATAA 3'  
TGTCTCCGAGGATTACAACATCTACTTTTAGTCTAACTCCTCGAACCTTATTTCACTTTCATTTCTTCTTATT 5'

## VI.3. Clonage d' un gène de bactérie

Amorce sens: 5' CCCAAGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGG 3'

5' CCCAAGCTT ATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCATTATGTGTGGAGAAATAAGAGAGAACCATATTGAAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCCAGAGAAAAAGAAATCTT  
3' TACCCCTCTTAGAAATTTACCTAACTTCGCTTGGTAATACACACCTCTTTATTCTCTCTTGGTATAACCTTTATCTCAACATCACTACCCTACCCAGGTCTCTTTTTCTTTAGAA  
GGAGGGTTAGTATTCGTAGATTTAAGAGATAGAGAAGGTATACTTCAAGTAGTTTTGGAGAAGAAATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATAT  
CCTCCCAATCATAAGCATCTAAATTCTCTATCTCTTCCATATGAAGTTCATCAAAAACCTCTTCTTTATTTATTCTACGAAAATACTTTTCGCCTAAATCAATTTAGTCTTATA  
-----  
-----  
CCACATGCTGGTCTTGCTTATGGATTAGATAGACTTATAATGTTCCCTGCAGGTACTGAAAACATCAAGGACGTAATAGCCTTCCCTAAAAATCAAAATGCATTCTGTCCTCTT  
GGTGTACGACCAGAACGAATACCTAATCTATCTGAATATTACAAGGAACGTCCATGACTTTTGTAGTTCCCTGCATTATCGGAAGGGATTTTTAGTTTTACGTAAGACAGGAGAA  
ACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAATCAGATTGAGGAGCTTGAATAAAAAGTTGAAAGTAAAGAAGAAGAAATAA 3'  
TGTCTCCGAGGATTACAACATCTACTTTTAGTCTAACTCCTCGAACCTTATTTTCAACTTTCATTTCTTCTTCTTATTCTCGAGG 5'

Amorce antisens: 3' CATTCTTCTTCTTATTCTCGAGG 5'

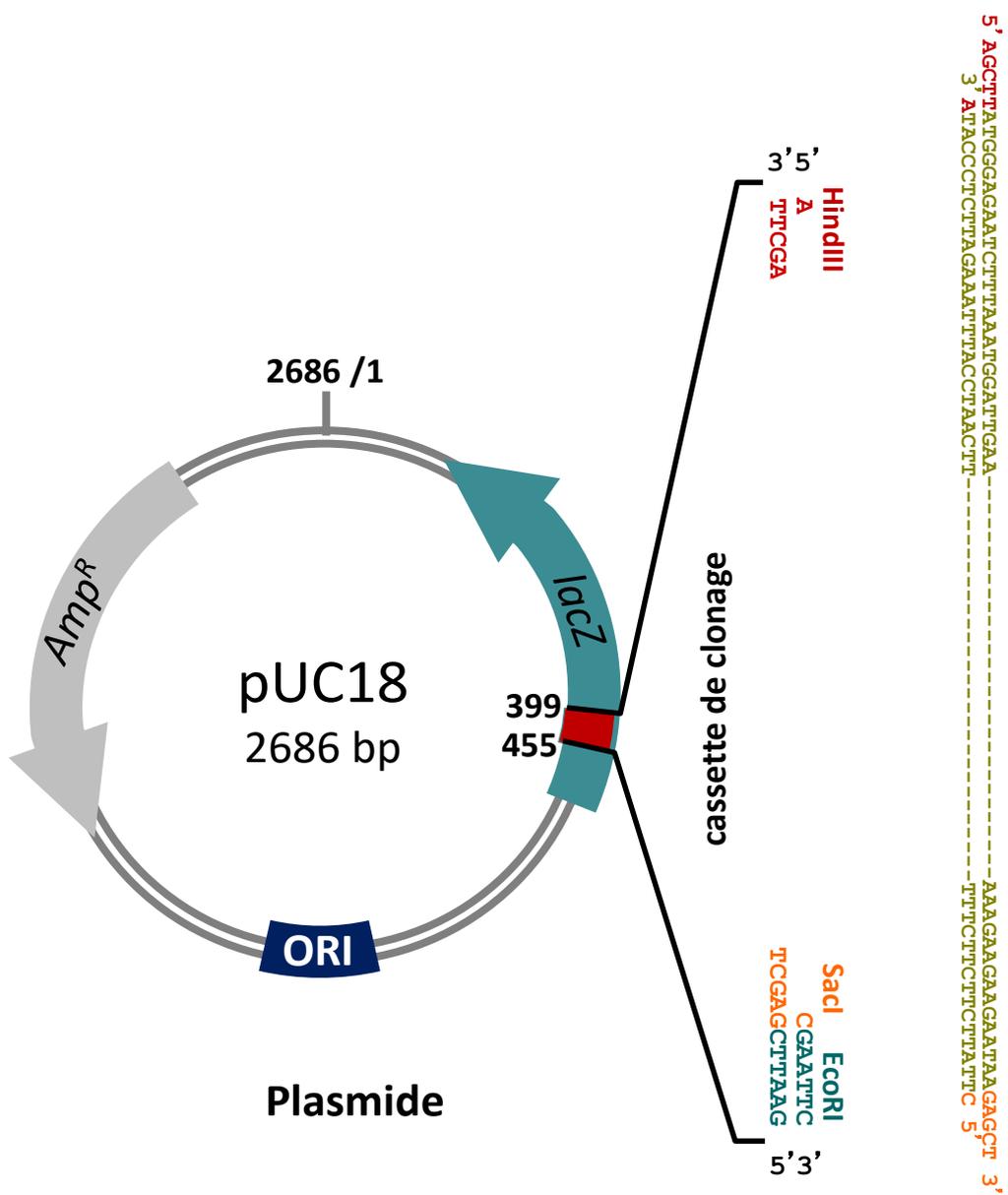
5' CCCAAGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAAGCGAACCATTATGTGTGGAGAAATAAGAGAGAACCATATTGAAATAGAGTTGTAGTGATGGGATGGGTCCAGAGAAAAAGAAATCTT  
3' GGGTTCGAATACCCCTCTTAGAAATTTACCTAACTTCGCTTGGTAATACACACCTCTTTATTCTCTCTTGGTATAACCTTTATCTCAACATCACTACCCTACCCAGGTCTCTTTTTCTTTAGAA  
GGAGGGTTAGTATTCGTAGATTTAAGAGATAGAGAAGGTATACTTCAAGTAGTTTTGGAGAAGAAATAAATAAGGATGCTTTTATGAAAGCGGATTTAGTTAAATCAGAATAT  
CCTCCCAATCATAAGCATCTAAATTCTCTATCTCTTCCATATGAAGTTCATCAAAAACCTCTTCTTTATTTATTCTACGAAAATACTTTTCGCCTAAATCAATTTAGTCTTATA  
-----  
-----  
CCACATGCTGGTCTTGCTTATGGATTAGATAGACTTATAATGTTCCCTGCAGGTACTGAAAACATCAAGGACGTAATAGCCTTCCCTAAAAATCAAAATGCATTCTGTCCTCTT  
GGTGTACGACCAGAACGAATACCTAATCTATCTGAATATTACAAGGAACGTCCATGACTTTTGTAGTTCCCTGCATTATCGGAAGGGATTTTTAGTTTTACGTAAGACAGGAGAA  
ACAGAGGCTCCTAATGTTGTAGATGAAAATCAGATTGAGGAGCTTGAATAAAAAGTTGAAAGTAAAGAAGAAGAAATAAGAGCTCC 3'  
TGTCTCCGAGGATTACAACATCTACTTTTAGTCTAACTCCTCGAACCTTATTTTCAACTTTCATTTCTTCTTCTTATTCTCGAGG 5'

# VI. Les gènes et le Clonage

5' CCCA 3'      5' CCCAAGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAA-----AAAGAAGAAGAATAAGAGCTCC 3'  
 3' GGGTCGA 5'    3' GGGTCGAATACCCTCTTAGAAATTTACCTAACTT-----TTTCTTCTTCTTATTTCGAGG 5'

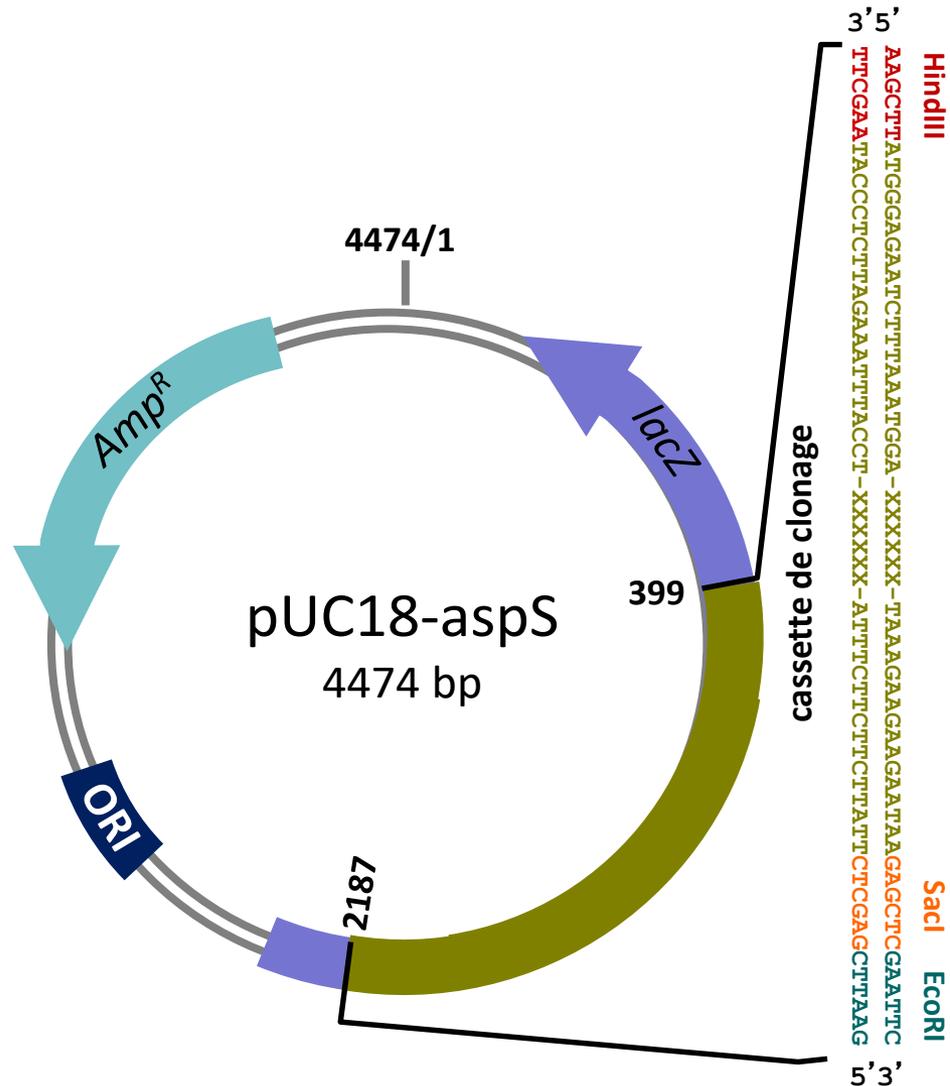
5' CCCA 3'      5' AGCTTATGGGAGAATCTTTAAATGGATTGAA-----AAAGAAGAAGAATAAGAGCT 3'      CC 3'  
 3' GGGTCGA 5'      3' ATACCCTCTTAGAAATTTACCTAACTT-----TTTCTTCTTCTTATTC 5'      TCGAGG 5'

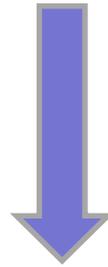
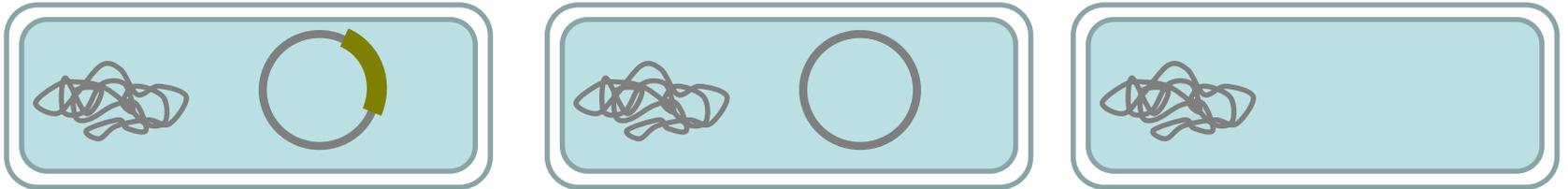
# VI. Les gènes et le Clonage



## VI.3. Clonage d'un gène de bactérie

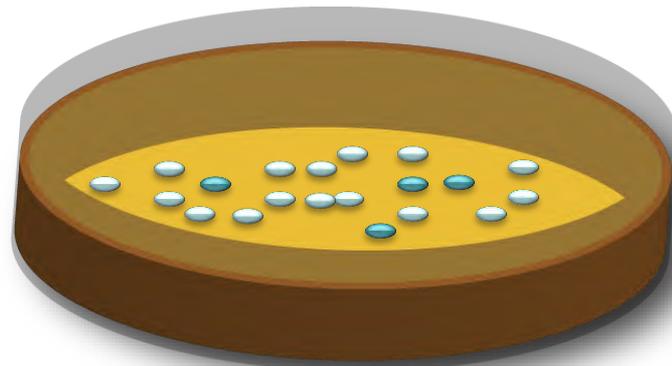
Clonage du gène de l'aspartyl-ARNt synthétase de *Clostridium acetobutylicum*

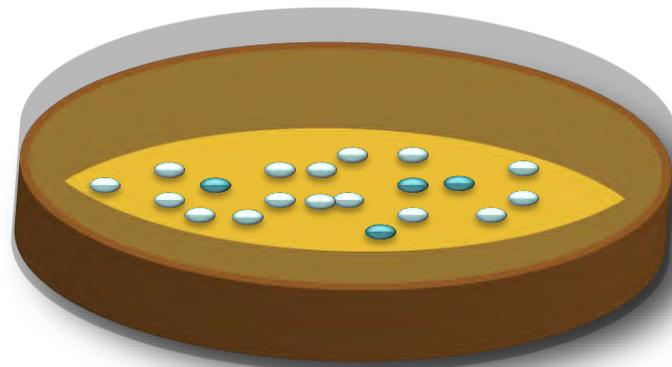
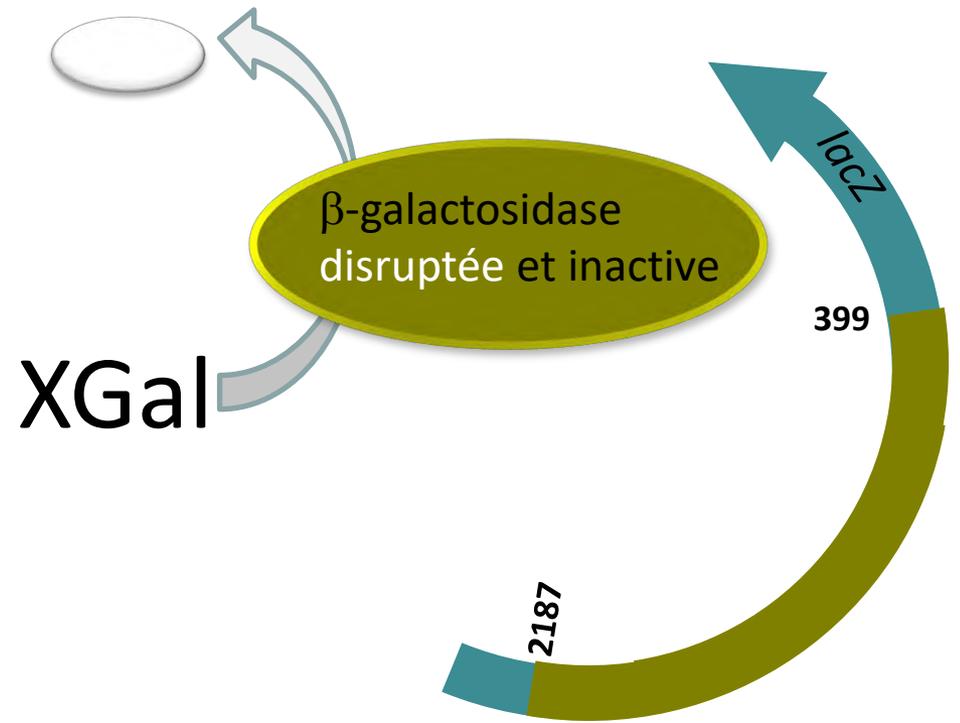
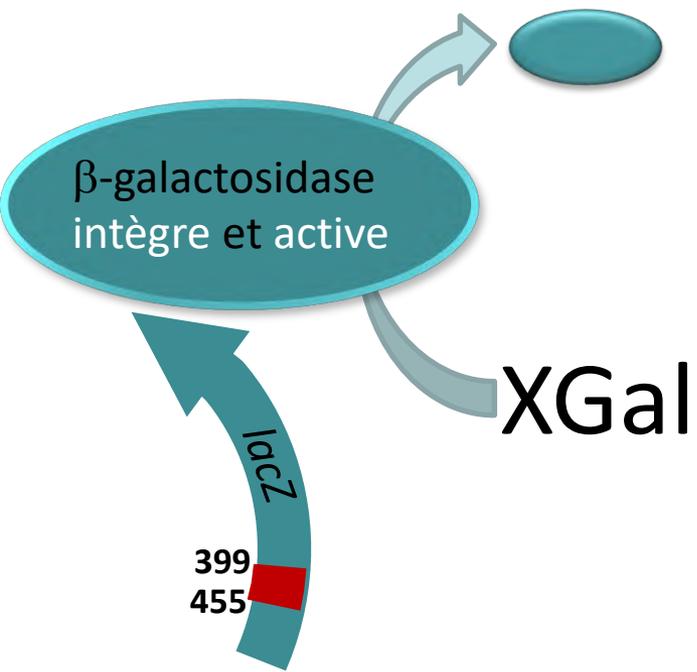


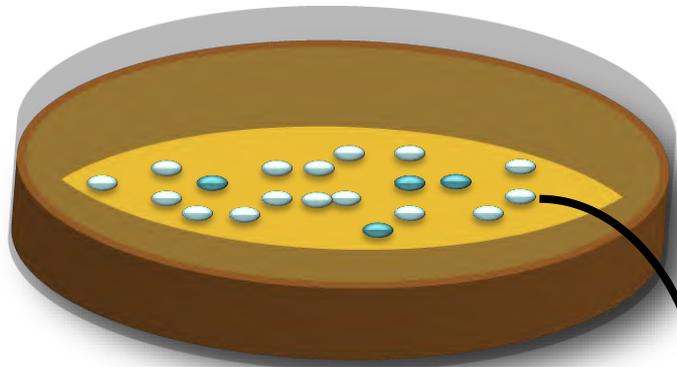


Etalement sur milieu sélectif

LB + Amp







Identification du bon clone et  
amplification du plasmide

