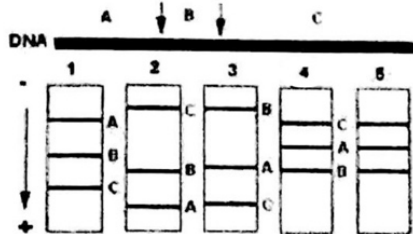


TD de Biologie Moléculaire
Dr.Aissam

A- La digestion d'un DNA par une enzyme de restriction a permis l'obtention de 3 fragments A, B et C de tailles différentes (voir figure). Séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%, le profile attendu correspondra à :



a) Profile 1. b) Profile 2. c) Profile 3. d) Profile 4. e) Profile 5 ?

B- Près du gène codant pour l'Hypoxanthine PhosphoRibosyl Transférase (HPRT) existe un polymorphisme des sites BamHI qui peut être révélé par la sonde DX10 représenté sur la figure ci-dessous.

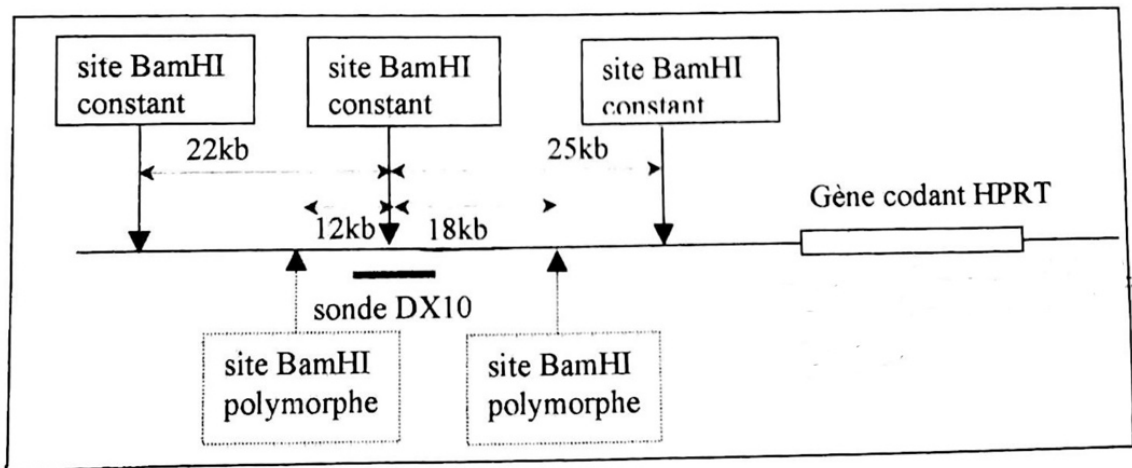


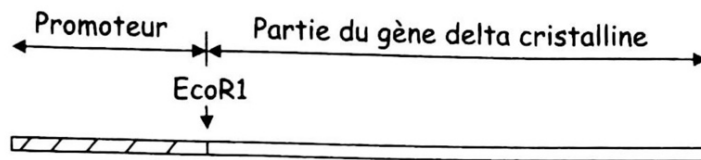
Figure : Carte de la région du chromosome X portant le gène codant pour l'HPRT et la zone voisine où est localisé le polymorphisme des sites BamHI

Pour un chromosome X donné, quelles bandes peut révéler la sonde DX10 pour l'ADN normal, chacun des mutants de site polymorphe BamHI et le double mutant?

C- Grâce à la recombinaison génétique in vitro on a pu obtenir un fragment de DNA (appelé fragment X) composé d'une partie du gène codant pour la protéine

delta cristalline de poulet et du promoteur d'un gène tRNA bactérien reconnu par la RNA polymérase procaryote (Figure 1). On se propose d'utiliser ce fragment X comme modèle afin d'étudier la transcription et l'épissage *in vitro* du RNA delta cristalline.

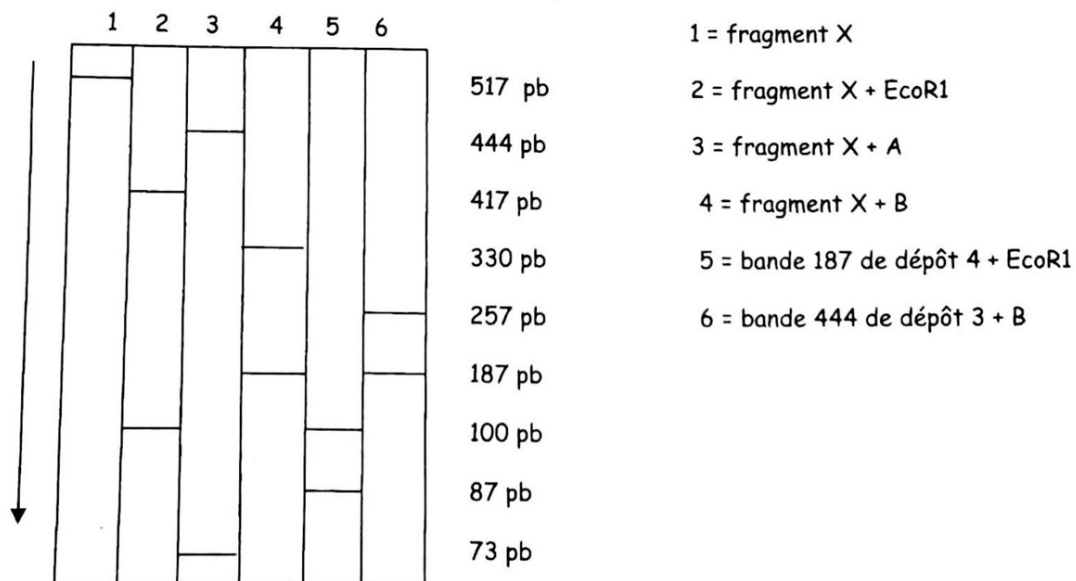
Figure 1 :



Pour ce faire, les expériences suivantes ont été réalisées :

- 1- La carte de restriction du fragment X a été déterminée pour deux enzymes de restriction A et B. Le fragment X est traité par l'enzyme A ou B dans des conditions adéquates d'incubation et les produits de digestion obtenus ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 2).

Figure 2 :



- Etablir la carte du fragment X.

- 2- Les ARNm codant pour la protéine delta cristalline ont été isolés des cellules de poulet en culture. Ces ARNm ont été hybridés avec le fragment X dénaturé et l'hybride obtenu est soumis à l'action de la nucléase S1. Deux fragments de DNA de 87 et 73 pb résistent à ce traitement.

- A quoi correspond les deux fragments ?

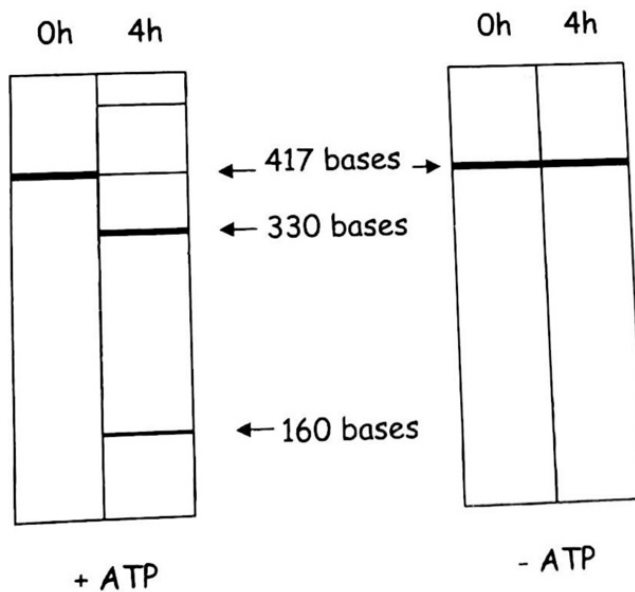
3- Le fragment X est incubé in vitro en présence de la RNA polymérase bactérienne et des 4 dNTP dont le dGTP est marqué en α au ^{32}P . L'analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide des ARN synthétisés montre la présence d'une seule bande de longueur de 417 bases.

- Que pouvez-vous conclure ?

4- La bande 417 a été découpée du gel et les ARN radioactifs sont élués de l'acrylamide.

Les ARN ainsi récupérés pendant 4 heures dans un extrait nucléaire de cellules de poulet en présence (tube 1) et en absence (tube 2) de l'ATP. Des aliquots sont prélevés de chacun des tubes et les ARN extraits au phénol de chacun des prélèvements sont analysés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Figure 3).

Figure 3 :



- A quoi correspond chacune des bandes observées au niveau de la figure 3.
- Proposer un modèle expliquant l'épissage de l'ARN de la delta cristalline in vitro.