

BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

Examen 1
Mlle GROSJEAN

Conditions d'examens

Documents

X

Autorisés

Non autorisés

Calculatrice

X

Non autorisée

4 opérations autorisée

Tout type autorisée

Remarques particulières :

Question 1 (6 pts)

- a) Présentez dans un schéma le plus complet possible l'organisation d'une bulle de réplication.
- b) Qu'est-ce que le réplisome ? Décrivez toutes les enzymes et protéines trouvées dans le réplisome, dans leur ordre de fonctionnement.
- c) Pourquoi la réplication est-elle discontinue par endroits ?
- d) Présentez dans un tableau une comparaison entre la réplication et la transcription.

Question 2 (6 pts)

- a) Qu'est-ce que le profil d'expression d'un gène de structure ? Comment est déterminé ce profil : quels éléments et quels mécanismes sont impliqués ?
- b) Décrivez de manière détaillée comment se fait l'initiation de la transcription d'un gène de structure. Puis proposez un schéma représentant l'ensemble des protéines et enzymes présents sur l'ADN juste avant le démarrage de la transcription d'un gène.

Question 3 (6 pts)

Vous souhaitez étudier le gène *side* (silic detachment) du Colza : il code pour la protéine Side, qui favorise le détachement de la silique (= la gousse qui contient les graines) de la tige, tout particulièrement en condition de sécheresse. Ce caractère agronomique est très défavorable au rendement puisque les siliques tombent par terre avant la récolte.

- a) Pour cette étude, vous avez choisi de commencer par la technique du gène rapporteur : que va-t-elle vous permettre de déterminer ?
- b) Le gène rapporteur que vous avez choisi est le gène qui code pour la β -galactosidase. Que doit contenir le plasmide que vous allez construire pour réaliser cette étude : détaillez ses différentes parties (schéma conseillé) en expliquant d'une ligne leur rôle.

TSVP

c) Le plasmide pBSK dont vous disposez contient le polylinker suivant. Qu'est-ce qu'un polylinker et à quoi cette zone du plasmide sert-elle ?

BamH I Spe I Xba I Not I Sac I Sal I
 - - - - GGGGATCCACTAGTTCTAGAGCGGCCGCTGGAGCTCCAATTCGTCGACCCCTATATC - - - -

d) Le gène rapporteur choisi a été préparé en le coupant par l'enzyme Sau3A I. Par ailleurs, voici une liste d'enzymes de restriction avec leurs sites de coupure :

BamH I G/GATCC	Sau3A I /GATC
Not I GC/GGCCGC	Spe I A/CTAGT
Sac I GAGCT/C	Xba I T/CTAGA
Sal I G/TCGAC	

Quelle enzyme allez-vous choisir pour introduire votre gène rapporteur dans le plasmide pBSK ?

e) Une étude préalable du promoteur du gène *side* a montré que quatre zones semblaient importantes dans le contrôle du taux de transcription : la zone A (position -180/-170), la zone B (position -100/-85), la zone C (position -70/-55) et la zone D (position -30/-25). Plusieurs constructions ont été réalisées avec des délétions de ces différentes zones et plusieurs plantes de Colza transgéniques différentes ont ensuite été obtenues. L'activité du gène rapporteur a été dosée dans plusieurs échantillons de ces différentes plantes, les résultats sont détaillés dans la Figure 1.

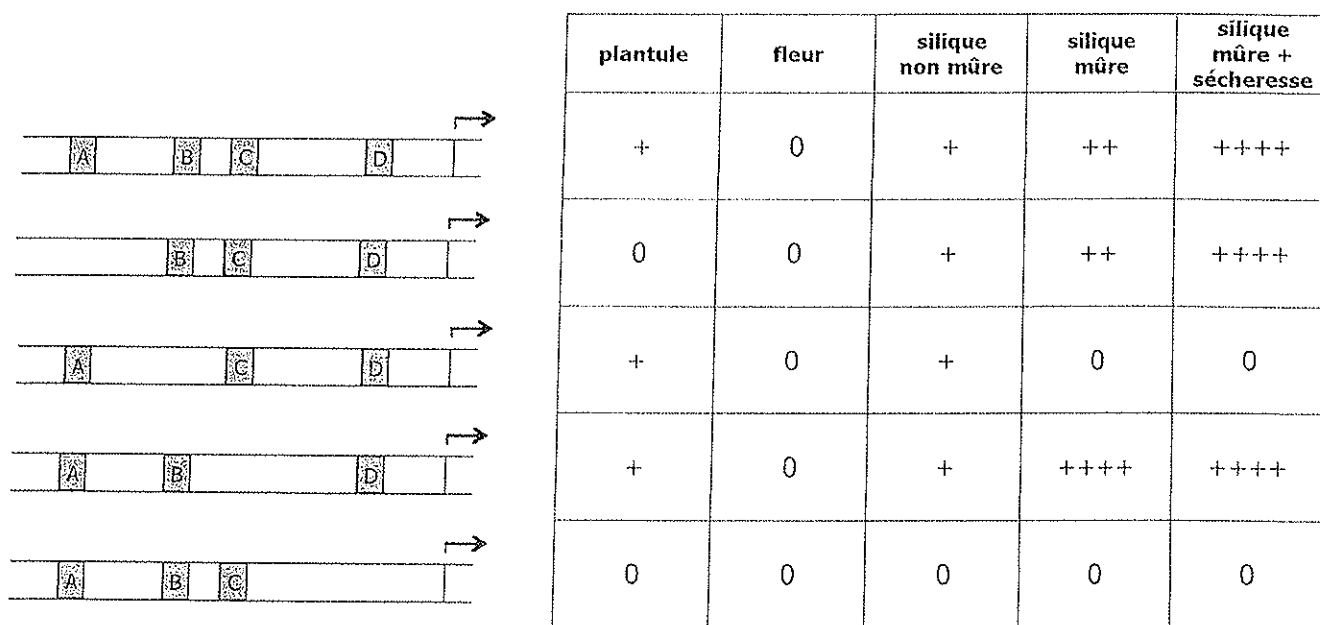


Figure 1 : Activité de la β -galactosidase dans différents échantillons de plants de Colza.

L'activité est exprimée de manière semi-quantitative (0 = pas d'activité ; nombre de croix = activité de plus en plus forte). Cette activité a été dosée dans des échantillons tirés de cinq plantes transgéniques différentes, chacune transformée avec une construction du promoteur du gène *side* différente : les cinq constructions sont schématisées à gauche. La première correspond au promoteur normal, les quatre suivantes correspondent à des délétions des différentes zones identifiées dans le promoteur.

Que pouvez-vous en conclure sur le rôle des zones A à D dans ce promoteur ?

Est-ce que ces quatre zones permettent d'expliquer totalement le profil d'expression du gène *side* ? Qu'en concluez-vous ?

Question 4 (2 pts)

Quel est le principe d'une hybridation moléculaire en génie génétique ?

Quelles sont les deux techniques basées sur ce principe ? A quoi sert chacune de ces deux techniques ?