



Isaralyon

Une école d'ingénieurs au cœur de la vie



* 3 6 6 8 2 *

COZZOLINO Camille

année d'études : 1^{ère} année

Date : 09 décembre 2013



* 1 1 1 7 2 *

7

Q1: 5

Q2: 1

Q3: 1

Δ pour la synthèse, brève inversion avec l'ARNm

Les ARNt sont des éléments essentiels à la traduction protéique.

Nous pourrions donc nous demander comment les ARNt sont formés et quels sont donc leurs rôles ?

Nous verrons dans un premier temps leur formation puis nous verrons comment ils agissent lors de la création de la chaîne peptidique.

Les ARNt, pour être fonctionnels, doivent d'abord dans un premier temps être transcrits, mais ils doivent aussi être maturés et assemblés.

Tout d'abord, il existe une séquence conservée, qui fait partie du promoteur (au sens large), la boîte TATA. La séquence consensus TATAAA.

pour les ARN m

95

va être reconnue par l'ARN polymérase III
(C'est l'orientation du promoteur qui va déterminer
quel brin va être traduit). Si cette boîte
n'existe pas, ce sont les séquences d'initiation
qui initient la transcription. Il existe aussi
une autre boîte conservée, la boîte GC/AGGCTAG
AGC, et se sont la protéine SP1 qui va la
reconnaître et initier la transcription.

Arrivée au niveau de la boîte TATA, la
polymérase va ouvrir les deux brins. Mais
pour que la transcription puisse se faire,
des facteurs de transcription ^{généraux} vont venir se fixer
sur la polymérase et d'autres facteurs de
transcription spécifiques vont aussi se fixer
sur la polymérase, grâce aux boucles faites par
l'ARNI. En effet ces facteurs se situent très loin
du promoteur. La transcription peut enfin
démarrer. L'ARN pol III ajoute en face de
de chaque nucléotide, un nucléotide complémentaire.
L'ARN produit est complémentaire et
antiparallèle à l'ADN brin anti-sens, et donc
identique et parallèle à l'ADN brin sens.



Transcription d'un gène

A Review

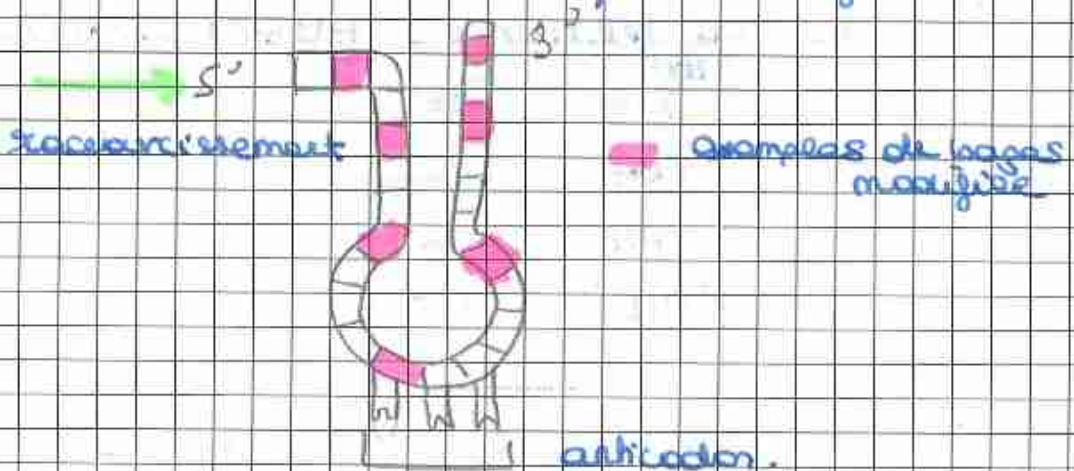
Un signal de terminaison arrête la transcription :
 tout le bien d'ARN n'est pas transcrit.
 Quand la polymérase arrive sur le signal
 de polyadénylation, certains facteurs de
 transcription se détachent de la polymérase et
 la polymérase se décroche plusieurs bases
 plus loin : les transcrits primaires ont donc
 la même taille. La transcription est donc
 finie. Le reste de la transcription est
 de la nucléotides à la seconde, il n'y a pas besoin
 d'amorce.

qs

L'ARNt doit maintenant être mature.
 L'ARNt est composé d'un bon gène qui sont
 répétés en tandem (10 à 100 fois).

On peut ensuite observer le raccourcissement
 de l'extrémité 5' (de 100 à 200 paires de bases)
 et des modifications de base qui donne des
 bases atypiques. Les ARNt vont subir des
 torsions et avoir une forme en tige boucle.

qs



Schema d'un ARNt fonctionnel

Les a.a. n'ont aucune correspondance avec les codons : il faut donc un adaptateur : l'ARNt.

Pendant la traduction, les ARNt sont positionnés sur les sites A, P et E du ribosome. Les ARNt possèdent l'anticodon du codon de l'ARNm.

Un ARNt vient se positionner avec un a.a. sur le site P : il possède l'anticodon de la méthionine = AUG. Ensuite, un autre anticodon complémentaire au codon de l'ARNm vient se fixer sur le site A. Le début de chaîne polypeptidique vient se connecter à l'a.a. du site A.

Avec la séquence AUG-CUA-G-AAUAC

on a :

Codon	a.a.
AUG	Met
CUA	Leu
GAA	Glu
UAC	Thyr

Tableau de correspondance
du codon à l'a.a.



Isaralyon

Une école d'ingénieurs au cœur de la vie

Année d'études : 1^{ère} année

Examen de : Bio mol

Date : 09/12/13

Nom : Lozzdino

Prénom : Camille

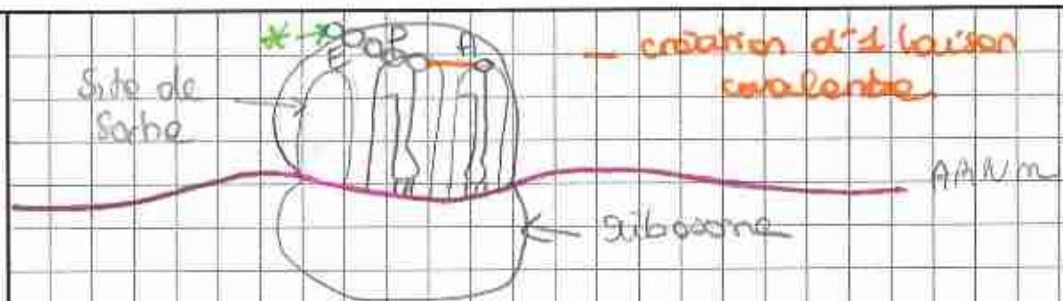
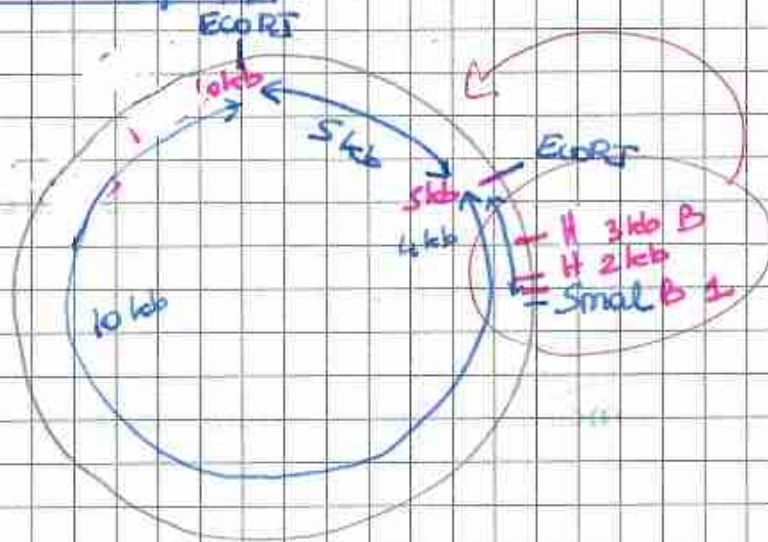


schéma d'une création d'un peptide
C'est l'extrémité B' qui accroche les a a

* on a donc :
mat - Lave - Gen - thyr

Génie Génétique

95 E
95 2 kb B



il n'y a pas de
ntt H et B
sur le plasmide
sur l'insert

ça n'est pas
le plus simple

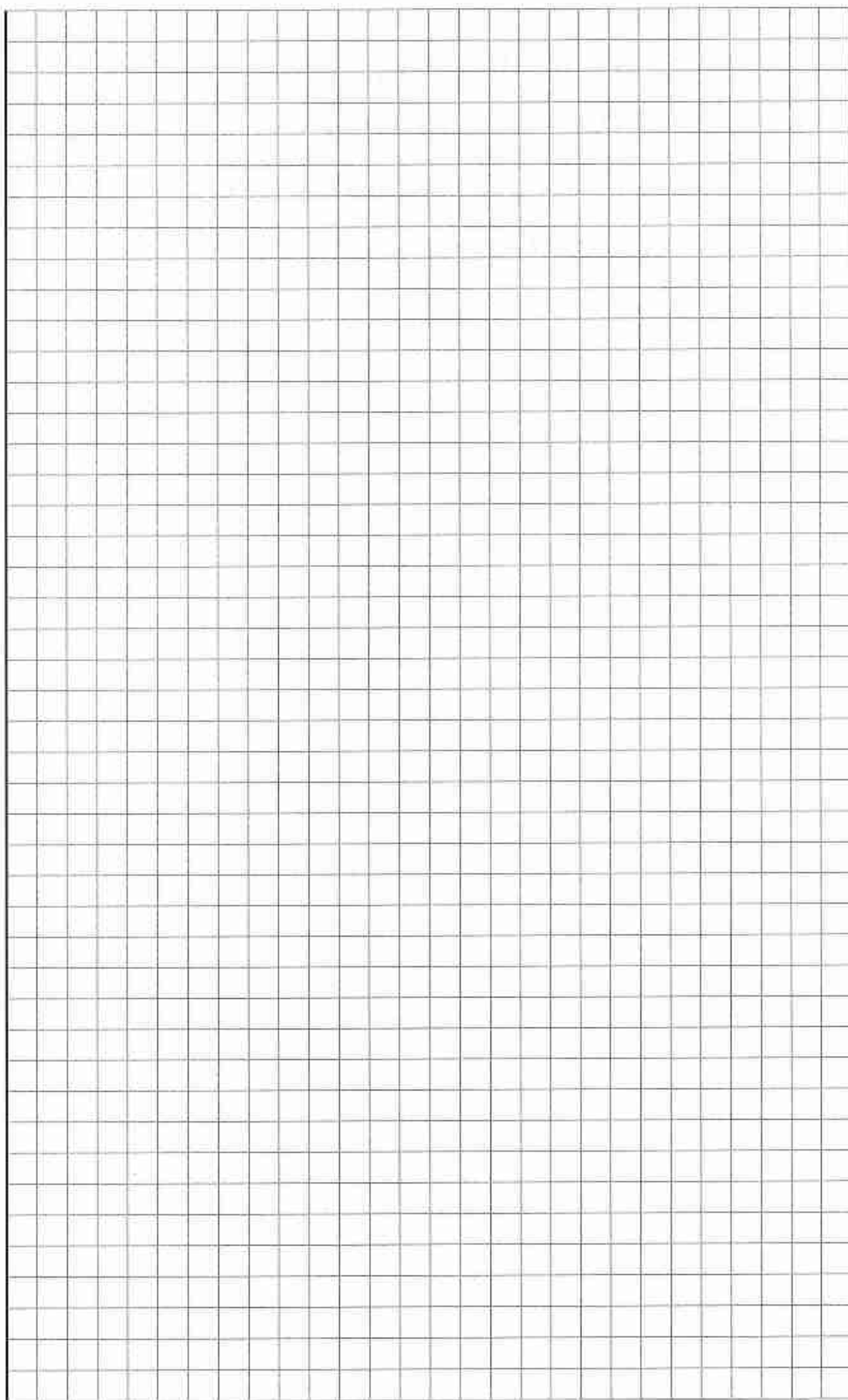
e) On pourrait utiliser la méthode du
séquençage

Question technique:

Séquençer c'est séparer l'ADN en plusieurs
fragments pour ensuite pouvoir les analyser,
on gène ça avec une électrophorèse, et
on compare aux séquences du promoteur, et
de l'intron et voir s'ils correspondent, pour
savoir s'il ya eu des mutations ou des
problèmes au cours des manipulations.
(même taille, 1 exemplaire, ...)
On va donc digérer l'ADN avec des enzymes

de restriction, les déposer sur le gel
d'Agarose d'une électrophorèse, avec
les témoins (promoteur et insert) - on laisse
migrer et on compare.

→ A. R. ddNTP
Promoteur: activation



ISARA-Lyon
1ère Année
46ème Promotion

2013/2014
9 décembre 2013
2 heures

BIOLOGIE MOLECULAIRE
A. Verdier

Documents non autorisés
Calculatrice non autorisée

Consignes :

Répondre sur copies. Etre clair et concis.

Question de synthèse (temps conseillé 1h00) : Les ARNt

Les ARNt sont des éléments essentiels à la traduction protéique. A l'aide de schémas et de tableaux, montrez les étapes de formation de ces molécules en détaillant, la transcription, la maturation, puis l'obtention de la liaison ARNt-acide aminé en complétant la Figure 1. Vous expliquerez, ensuite, comment les ARN-t agissent lors de la création de la chaîne peptidique en prenant le cas d'une séquence précise d'ARNm donnée Figure2 et en vous aidant du code génétique Figure3.

Il n'est pas nécessaire de présenter tout le mécanisme de traduction mais d'être précis concernant les différents ARNt potentiellement trouvés lors de la traduction de cet ARNm (séquences particulières et structure de ces ARNt).

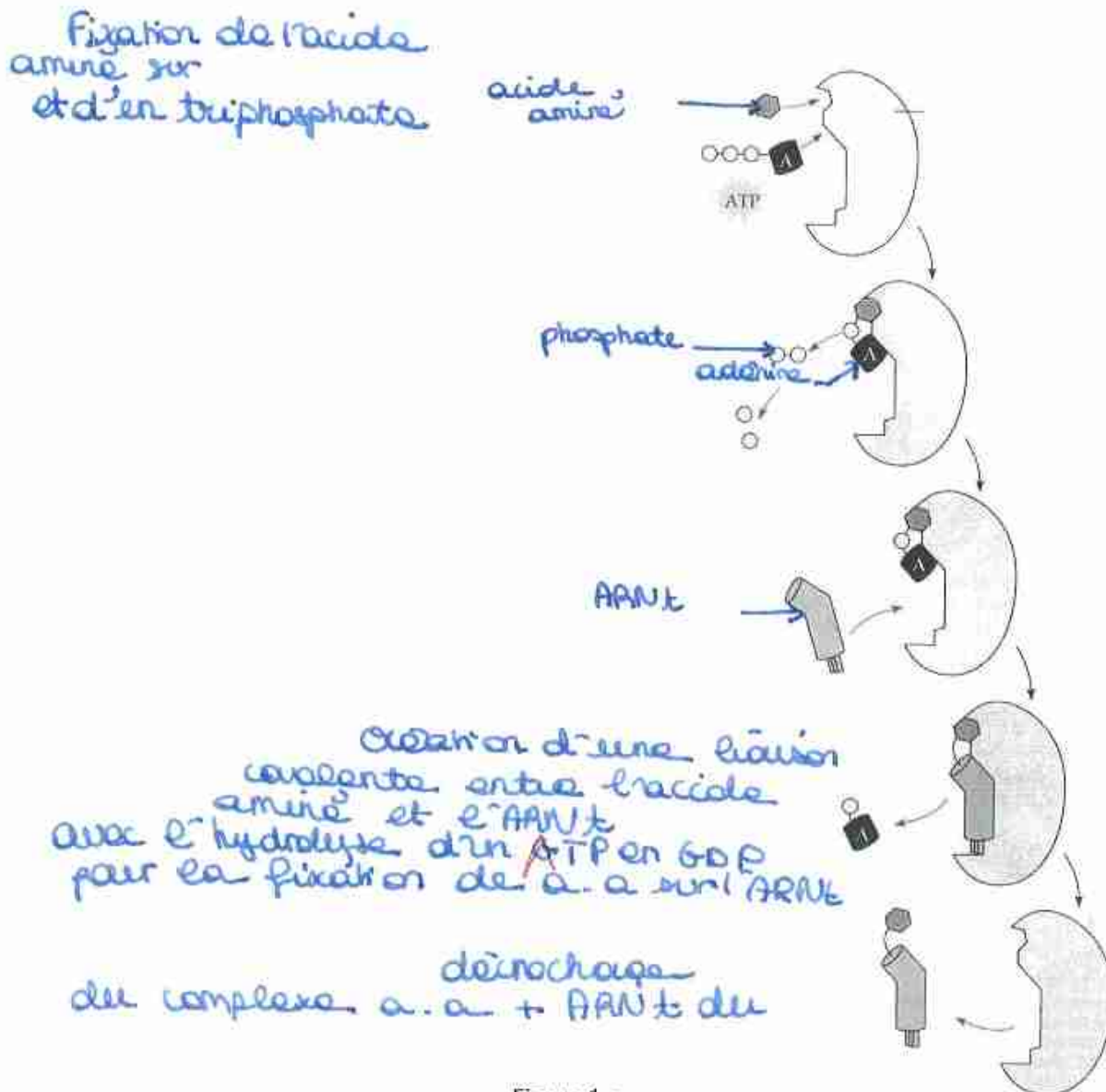


Figure 1 :

Bien

2.

Figure 2 : séquence d'ARNm

AUGCUAGAAUAC

Figure 3 :

Code génétique (de l'ARN en acides aminés)

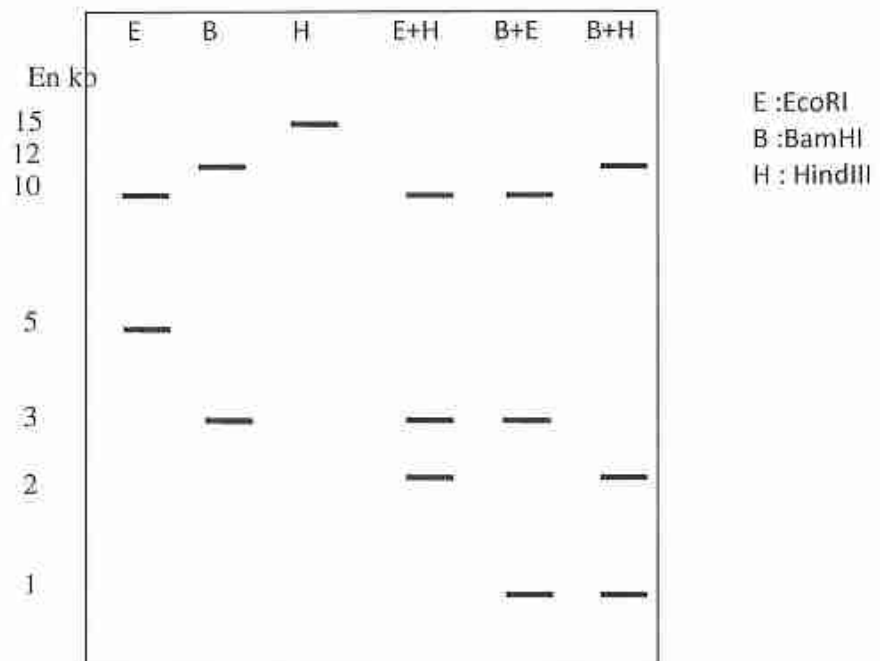
Première position (extrémité 5')	Seconde position				Troisième position (extrémité 3')
	U	C	A	G	
U	Phé	Sér	Tyr	Cys	U
	Phé	Sér	Tyr	Cys	C
	Leu	Sér	<u>Stop</u>	<u>Stop</u>	A
	Leu	Sér	<u>Stop</u>	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Sér	U
	Ile	Thr	Asn	Sér	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Mét	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Question de génie génétique (temps conseillé 40min) :

On a inséré un fragment d'ADN de 5kb, obtenu par digestion EcoRI, dans un plasmide pEX de 10kb, préalablement digéré par EcoRI, dont on sait qu'un site unique est porté par le plasmide.

De plus, ce plasmide pEX ne porte pas de site BamHI et HindIII mais un site SmaI à 4kb de EcoRI.

Le plasmide pEXR (recombinant) est préparé et digéré par différentes enzymes de restriction. Chaque mélange de digestion est ensuite analysé sur gel d'agarose. Les résultats sont représentés ci-dessous :



1 : Donnez la carte de restriction du plasmide recombinant pEXR. (Position sur le plasmide des sites des enzymes de restriction les uns par rapport aux autres)

2 : Quel protocole proposeriez-vous afin d'affirmer le sens de l'insert dans le plasmide recombinant pEXR?

Question technique (temps conseillé 20min) : Le séquençage

Présentez le principe du séquençage.