

TD 1 de biologie moléculaire et génie génétique

Exercice 1

Répondre aux questions ci-dessous

- Quelles sont les principales molécules qui composent l'ADN ?
- Le rapport A+T/G+C dans un simple brin d'une molécule d'ADN est de 0.2. Quel est le rapport A+T/G+C du brin complémentaire ?
- Quel est le rapport A+G/T+C dans la double chaîne de l'ADN ?
- La composition en bases de deux ADN A et B est:

	A	G	C	T
ADN A	20	29	28	20
ADN B	25	24	19	34

Que vous suggère la composition en bases de l'ADN A et l'ADN B ? Pourquoi ?

Exercice 2 :

Un ADN monocaténaire (brin +) présente la composition molaire en bases suivante :

G : 24% ; C : 18% ; A : 25%. En présence d'ADN polymérase, le brin complémentaire est formé.

Quelle est la composition en bases du (brin -) néoformé et celle du brin bicaténaire ?

L'ARN polymérase ne transcrit que le brin -. Quelle sera la composition en base de l'ARN formé ?

Exercice 3 :

Le DNA du bactériophage M 13 possède la composition en bases suivantes: A 23 %; G 21 %; C 20 %. Que nous apprend cette composition sur le DNA de ce phage ?

Exercice 4 :

Écrire la séquence en bases du brin complémentaire de la double hélice de DNA dans laquelle un brin possède la séquence.

(5') ATGCCGTATGCATTC (3').

Exercice 5

Soit la composition suivante d'un brin composant une double hélice d'ADN (donnée en fraction molaire) : [A] = 0.3, [G] = 0.24.

Que pouvez-vous dire des concentrations [T] et [C] sur ce même brin ?

Que pouvez-vous dire des concentrations [A], [G], [T] et [C] sur le brin complémentaire?

Quelle sera la composition en pyrimidine de ce simple brin d'ADN ? de son brin complémentaire ? du double brin d'ADN ?

Exercice 6

Le séquençage du génome de *Bacillus subtilis* a été achevé en 1997. Il a une taille de 4214814 paires de bases Et contiendrait 4225 gènes, dont 4107 coderaient pour des protéines. Le pourcentage de a guanine et cytosine (%G+C) de ce génome est de 60%.

1-quel est l'intérêt de déterminer le pourcentage de guanine et cytosine ?

2- déterminer le pourcentage de chacune des bases constitutives de cet ADN.

TD 2 de biologie moléculaire et génie génétique

Exercice 1 :

La masse moléculaire de l'ADN d'*E. coli* est de $2,5 \cdot 10^9$ daltons. La masse moléculaire moyenne d'une paire de nucléotides est de 660 Da.

1. **Calculer** : -le nombre de paires de bases. Le nombre de tours d'hélice de cette molécule d'ADN.

-la longueur de l'ADN. Comparer cette longueur aux dimensions cellulaires. Comment peut-elle entrer ?

2- quelle est la masse, exprimée en pg, d'une telle molécule d'ADN ?

3- quelle est la quantité d'ADN, exprimée en μg , pouvant être extraite à partir de 1 ml d'une suspension bactérienne à 10^9 cellules. ml^{-1} ?

4. On supposera qu'une protéine comprend en moyenne 400 acides aminés. Quel est le nombre maximal de protéines qui peut être codé par une molécule d'ADN ?

3. Si 80% du chromosome codent pour des protéines, combien de protéines d'une masse moléculaire moyenne de 60000 Da pourront être automatiquement synthétisées ?

Le nombre d'Avogadro $N = 6,02 \cdot 10^{23}$ molécules par mol.

Exercice 2:

Soit une molécule d'ADN double brin de 2100 pb codant une enzyme procaryote.

a- Calculer la longueur du fragment d'ADN en nm puis en μ . Calculez la masse moléculaire de ce fragment d'ADN double brin.

b- Quel est le poids moléculaire de cette enzyme?

c- Une solution de cet ADN a une absorbance de 1,80 à 260 nm et 1,00 à 280 nm. Calculer la concentration et la pureté de cette solution d'ADN.

Exercice 3 :

La molécule d'ADN d'*E. coli* comporte approximativement $2,6 \cdot 10^6$ pb et pèse $2,66 \cdot 10^{-15}$ g.

- Calculer la masse d'un segment d'ADN de longueur de 0,1nm en gramme et en dalton.

TD 3 de biologie moléculaire et génie génétique

Exercice 1 :

Soient les trois désoxypolynucléotides à double chaîne suivants :

5' ATGCGTC GTACCGTAGTACT 3'

3' TACGCAGCATGGCATCATGA.5'

5' GATCAATATAATCTATT CGA 3'

3' CTAGTT ATATTAGATAAGCT 5'

5' GACCGGACGCACCGAGCGCT 3'

3' CT GGCCTGCG TGGCT CGCGA 5'

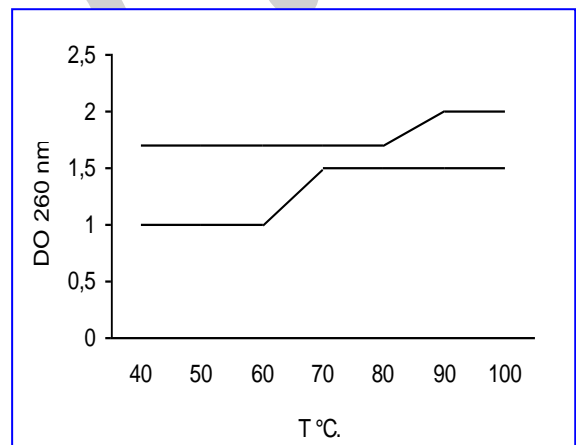
1. Quel est le polynucléotide qui a la température de fusion la plus élevée ?
2. Quel est celui qui a la T_m la plus basse ?
3. Si celles-ci sont respectivement 85°C et 45°C, quelle sera la T_m du troisième polynucléotide ?
4. Meme questions pour la densité, sachant que la densité la plus élevée est de 1,730g/cm³, la plus basse est de 1,690g/cm³.

Exercice 2

Deux molécules d'ADN double brins A et B d'origines différentes sont constituées de 647 pb. L'ADN A est résistant à l'action des exonucléases tandis que l'ADN B est hydrolysé par ces enzymes.

- 1) Quel est le poids moléculaire en dalton de ces deux molécules d'ADN et leur longueur en µm?
- 2) Que pouvez-vous déduire quant à leur structure ?
- 3) L'ADN C linéaire mesure 0.33 µm et a PM=291 Kd, quelle est la structure de cet ADN ?
- 4) On chauffe des solutions ADN A et B et on mesure leur absorbance en 260nm en fonction de l'augmentation de la température (voir fig.).
- 5) Que signifient les différences enregistrées dans les ADN A et B à 40°C ?
- 6) En quoi les 2 ADN A et B diffèrent-ils ?
- 7) Une solution c₁ de l'ADN C a une absorbance de 2,8 à 25 °C. En mélangeant 2.5 ml de cette solution à 7.5 ml d'eau on obtient la solution c₂.

Compléter la figure en portant la DO de la solution c₂ en fonction de l'augmentation de la température.



- 8) On soumet ensuite les solutions A et C à un refroidissement progressif ; schématiser la courbe de renaturation. Expliquer les résultats.
- 9) La DO d'une solution de l'ADN A est mesurée à 260nm (DO= 1.34) et à 280nm (DO = 0.89). Que pouvez-vous dire quant à la pureté de cette solution ? calculez la concentration de cette préparation.

Exercice 3:

On hydrolyse complètement un polynucléotide et on fait l'analyse. Les résultats de cette analyse sont les suivants :

- On met en évidence qu'un seul type d'ose.
 - Les bases pyrimidiques identifiées sont la cytosine et l'uracile en proportions importantes et la thymine en faible proportion.
- 1- A quelle catégorie appartient ce polynucléotide ?
 - 2- Enumérer les autres éléments constitutifs de ce polynucléotide.
 - 3- Ecrire la formule de l'ose identifié.
 - 4- Ce polynucléotide possède-t-il une structure caractéristique ? Si oui, laquelle ?

Exercice 4

Soit le fragment de DNA suivant :

5'AGTGCTGCTGATCAGCAGAATCGCATCCTA3'
3' TCACGACGACTAGTCGTCTTAGCGTAGGAT5'

1. Contient-il un segment palindromique ?
2. Considérant que deux fourches de réplication partent d'une origine unique.
 - Quelle est la durée, en minute de la réplication du chromosome d'*E. coli*, sachant que la vitesse de réplication par ADN polymérase III est d'environ 1000nt/sec et la taille du génome d'*E. coli* est d'environ 5×10^6 pb.
 - Quels sont les facteurs qui permettent d'assurer la fidélité de la réplication au cours de la synthèse d'ADN ?
3. Un polyribonucléotide de synthèse est réalisé à partir d'un mélange d'uracile et de cytidine (5U pour 1C). Si l'incorporation, au cours de la synthèse, est aléatoire, préciser la fréquence des différents codons réalisée.
4. Une cellule eucaryote contient approximativement 10^7 ribosomes et se divise en 24 heures.
 - Calculer le nombre de ribosomes devant être formés par seconde pour assurer aux cellules filles un stock complet de ribosomes.
 - Les ribosomes comprennent notamment deux types d'ARN : les ARN28S et 18S, synthétisés sous forme d'un ARN précurseur, l'ARN45S. La synthèse d'une molécule d'ARN 45S dure trois minutes. Sachant que le gène codant pour l'ARN 45S peut être transcrit à la fois par 100 molécules de transcriptase, combien de copies de ce gène le génome doit-il contenir pour assurer la synthèse de 10^7 ribosomes en 24 heures ?
5. Quelle séquence d'ARN produirait le brin d'ADN transcrit suivant : 5'G-T-T-C-G-T-T-G-A 3'
 - A) (ARN: 5'-U-C-A-A-C-G-A-A-C 3')
 - B) (ARN: 5'-C-A-A-G-C-A-A-C-U 3')
 - C) (ARN: 5'-T-C-A-A-C-G-A-A-C 3')
6. Soit une séquence présente sur un brin d'ADN (brin1)
.....G-A-C-T-T-A-C-A-C-G-C-G-A-T-T-T-T-A-T-A-T-A-G-C-.....
 - a. Ecrivez la séquence du brin d'ADN complémentaire (brin2).
 - b. Sachant que l'ARN issu de la transcription de ce fragment d'ADN code le début d'une protéine. Déterminez quel est le brin matrice (justifiez votre réponse) et écrivez la séquence de l'ARNm.
7. Soit le brin d'ADN antisens 5' CCGTAATGCTTAGGT 3', quelle est la séquence du brin transcrit et celle de l'ARN résultant (5'...3')?
8. Quels sont les points fondamentaux qui distinguent la transcription des eucaryotes et des procaryotes ?

	Procaryotes	Eucaryotes
Nombre d'ARN polymérases		
Masse moléculaire de l'ARNpol		
Lieu de transcription		
Région promotrices		
Facteurs de transcription		
ARN polycistronique ou monocistronique		
Modifications post-transcriptionnelles		
Maturation de l'ARNm		
Migration de l'ARN pré-messager vers le cytoplasme		
Temps de demi-vie		