

Série N° 3

Exercice N°1 :

On rappelle la formule permettant de calculer la température de fusion d'une molécule d'ADN de N paires de bases : $T_m = 81,5 + 16,6 \log [Na^+] + 0,41 (\% GC) - 600/N - 0,61 (\% formamide)$

Pour $N > 100$, $30\% < \% (G+C) < 75\%$, $0\% < \% \text{ formamide} < 50\%$, $0,01 \text{ M} < [Na^+] < 1 \text{ M}$

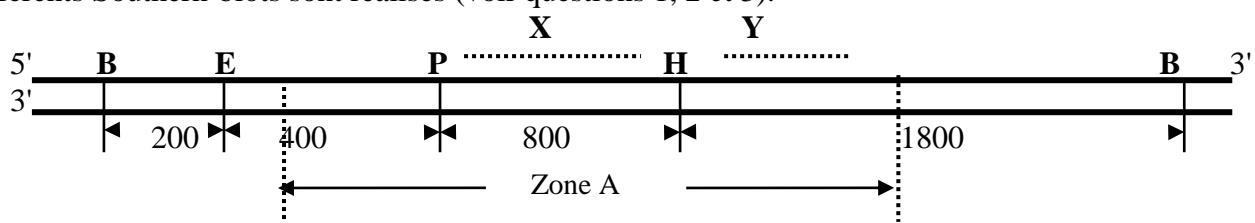
a- Quelle est l'influence relative des différents facteurs ?

b- Faites les applications numériques en faisant varier à leurs extrêmes les différents paramètres un à un (en prenant une valeur médiane pour les autres paramètres).

c- Quels sont les paramètres sur lesquels on peut agir pour modifier les conditions de fusion ou de renaturation de l'ADN et quel peut être l'intérêt de modifier ces paramètres ?

Exercice N°3 :

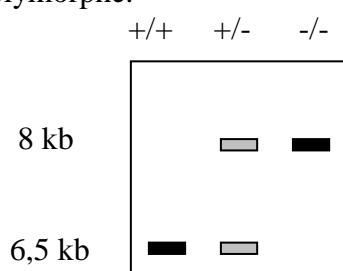
Un premier travail est réalisé sur l'ADN double brin schématisé ci-dessous (figure 1). Pour ce travail, vous disposez de deux sondes : une sonde X de 250 pb et une sonde Y de 200 pb. Chacune de ces sondes, différents Southern-blots sont réalisés (voir questions 1, 2 et 3).



Les distances ci-dessus sont exprimées en pb, B : site de restriction BamHI; E : site de restriction EcoRI; H : site de restriction HindIII; P : site de restriction PstI

1. Quel(s) résultat(s) devriez-vous obtenir en digérant l'ADN simultanément, par l'enzyme BamHI, HindIII et EcoRI et en utilisant la sonde X?
2. Quel(s) résultat(s) devriez-vous obtenir en digérant l'ADN simultanément, par l'enzyme BamHI, HindIII et EcoRI et en utilisant la sonde Y?
3. Représentez une sonde qui vous permettrait de visualiser tous les fragments obtenus après la digestion enzymatique par les 3 enzymes (BamHI, HindIII et EcoRI) simultanément.
4. proposez deux stratégies permettant d'amplifier la région A.

Un southern-blot est ensuite réalisé en digérant de l'ADN génomique de 3 patients par l'enzyme de restriction EcoRI et en utilisant une sonde A1 (figure 2). Cette représentation permet d'observer l'existence d'un site de restriction EcoRI polymorphe.



- : absence du site polymorphe ; + : présence du site polymorphe

Figure 3

5. Représenter un fragment d'ADN (localisation des sites de restriction polymorphes ou non, positionnement sur ce fragment d'ADN de la sonde A1) permettant d'expliquer ces 3 résultats.

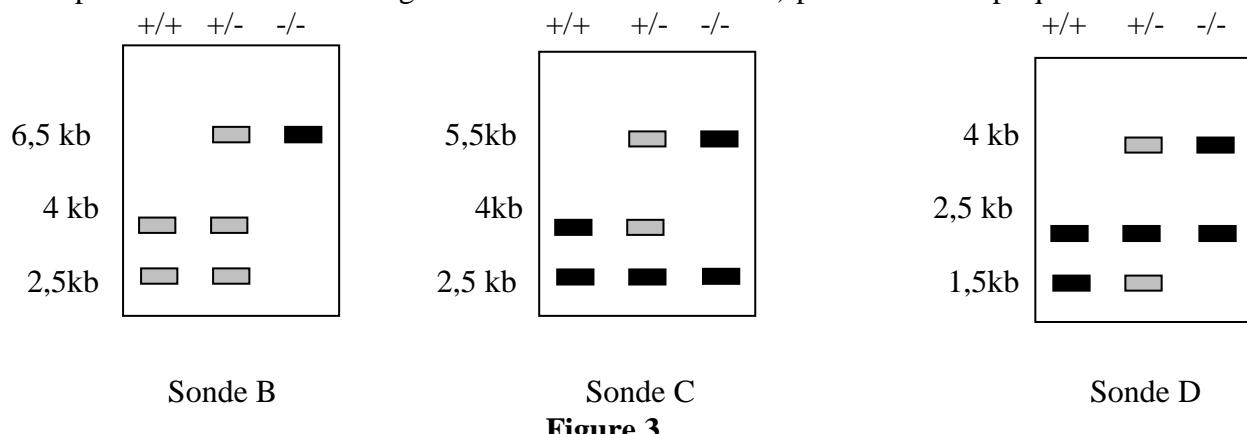


Figure 3

6. Même question, mais la sonde utilisée est la sonde B (Figure 3).
 7. Même question, mais la sonde utilisée est la sonde C (Figure 3).
 8. Même question, mais la sonde utilisée est la sonde D (Figure 3).
 9. Une étude est réalisée sur un individu de sexe masculin. Une séquence d'ADN localisée sur le chromosome X présente 2 sites EcoRI polymorphes proche l'un de l'autre : E1 et E2 (figure4). Après digestion avec l'enzyme EcoRI et hybridation avec la sonde E, quels fragments pourront être visualisés dans les cas suivants : a) sites E1 et E2 absents; b) sites E1 et E2 présents ; c) site E1 présent et E2 absent ; d) sites E1 absent et E2 présent.

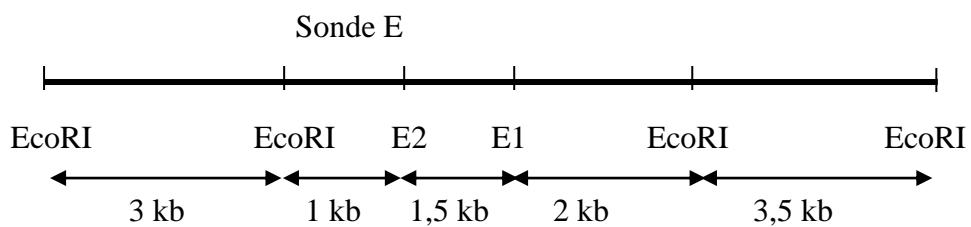


Figure 4