

Série N° 3

Exercice N°1 :

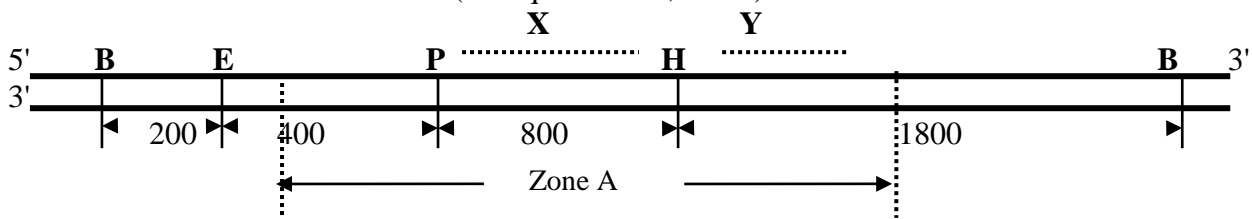
On rappelle la formule permettant de calculer la température de fusion d'une molécule d'ADN de N paires de bases : $T_m = 81,5 + 16,6 \log [Na^+] + 0,41 (\% GC) - 600/N - 0,61 (\% \text{ formamide})$

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

- Quelle est l'influence relative des différents facteurs ?
- 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).
- 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 :

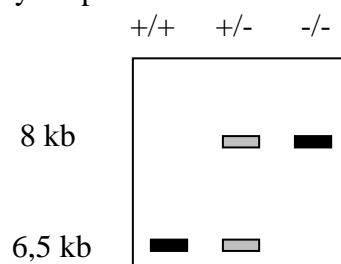
Un premier travail est réalisé sur l'ADN double brin schématisé ci-dessous (figure 1). Pour ce travail, vous disposez de deux sondes : une sonde X de 250 pb et une sonde Y de 200 pb. Chacune de ces sondes, différents Southern-blots sont réalisés (voir questions 1, 2 et 3).



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

- 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?
- 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?
- 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.
- 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.

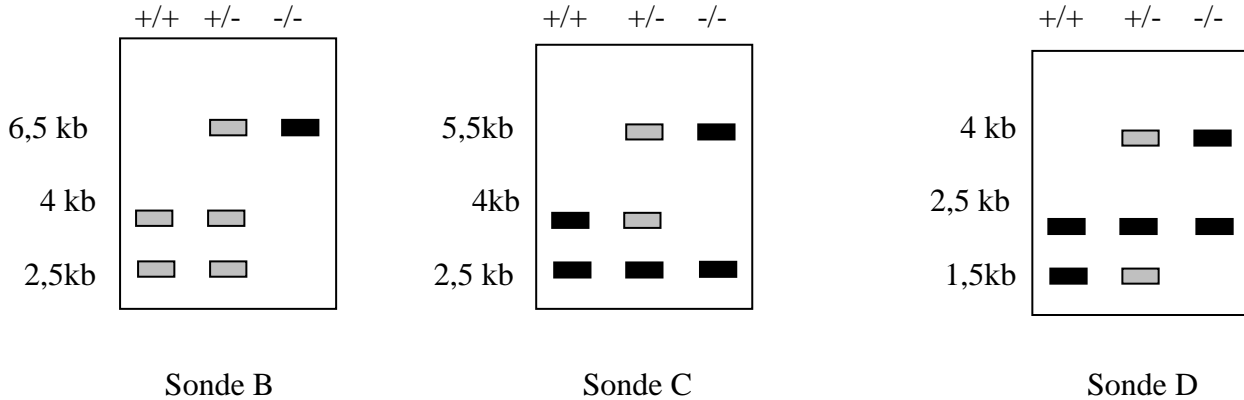


Figure 3

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.

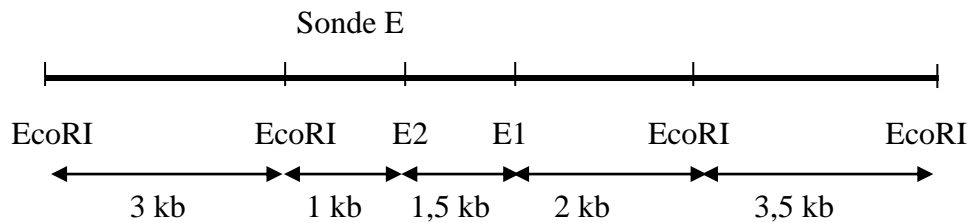


Figure 4