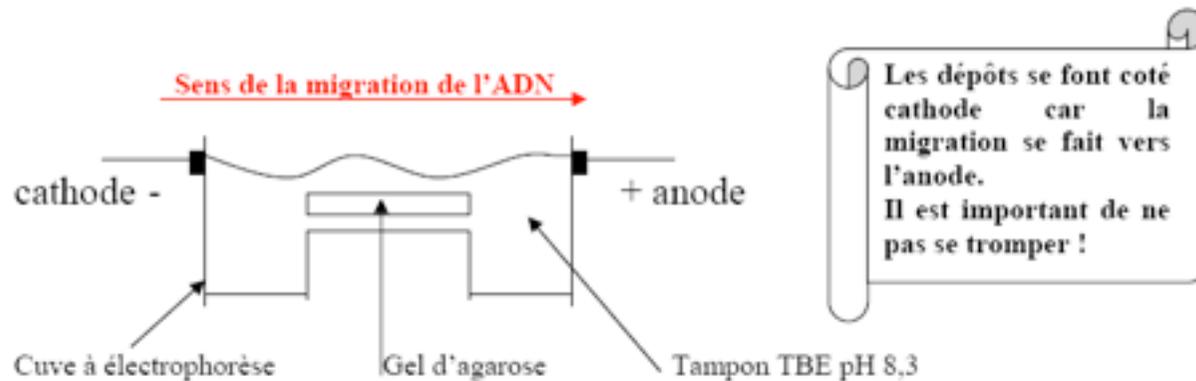


Quelques outils pour l'étude des génomes

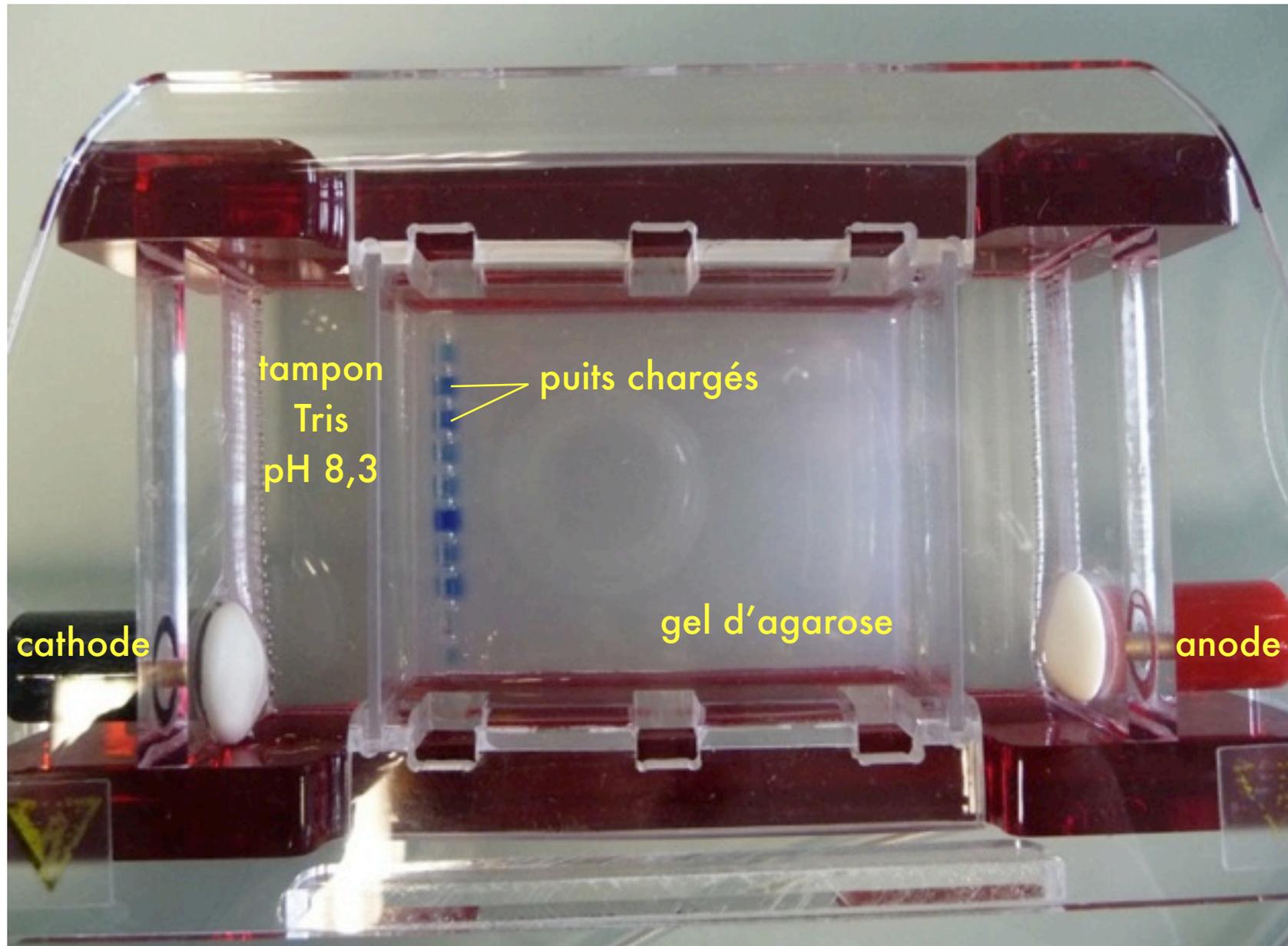
Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose



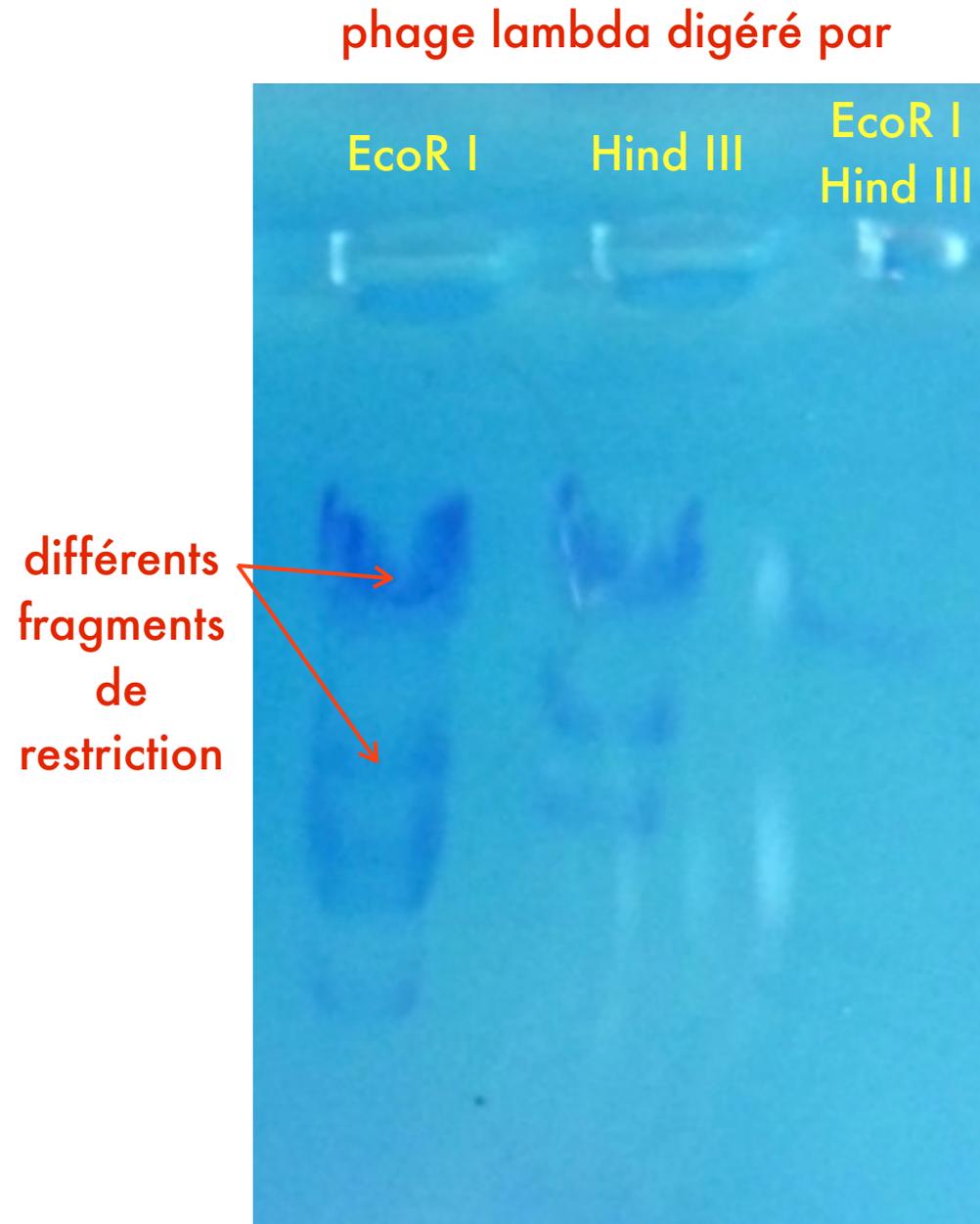
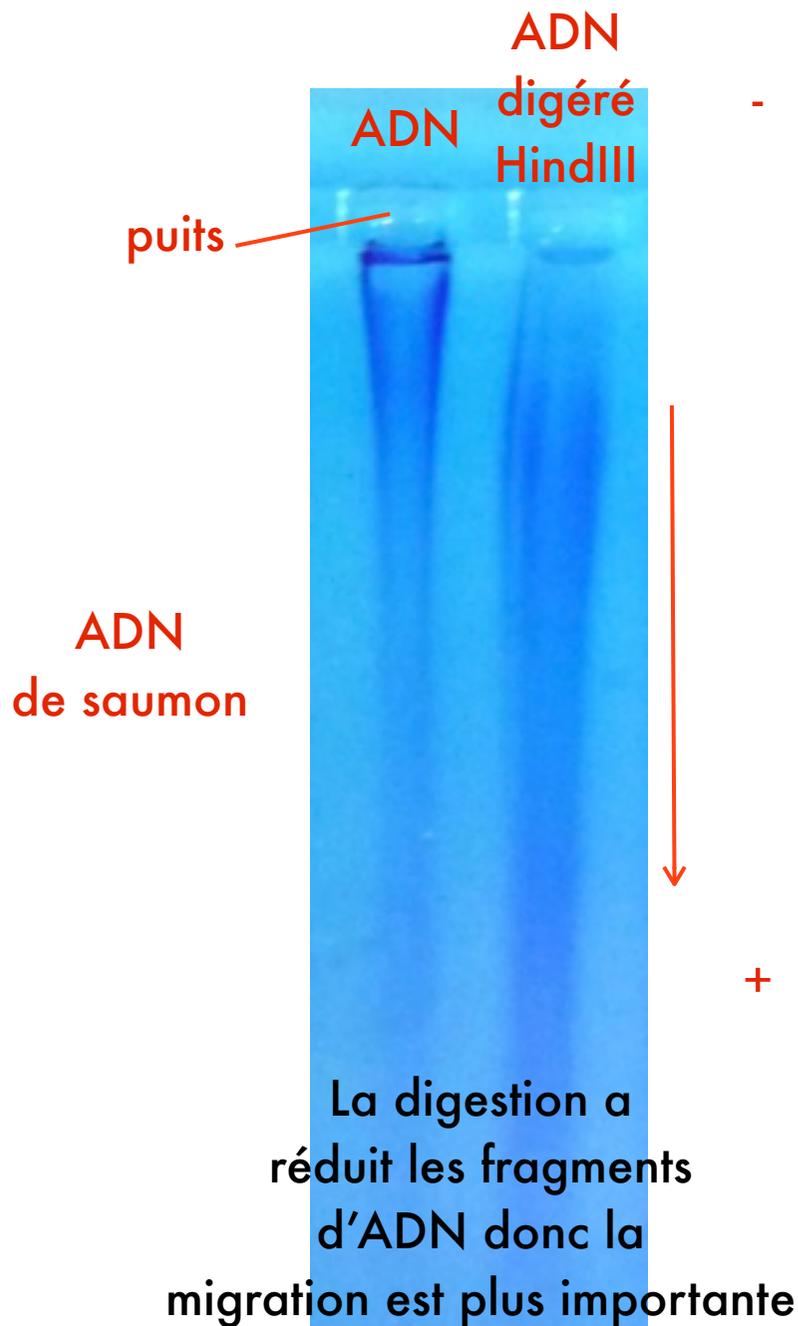
Sites de coupures des enzymes de restriction utilisées sur l'ADN de phage lambda:

Site de coupure pour l'enzyme de restriction :	
EcoRI	HindIII
$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'-G-A-A-T-T-C-3' \\ 3'-C-T-T-A-A-G-5' \\ \uparrow \end{array}$	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'-A-A-G-C-T-T-3' \\ 3'-T-T-C-G-A-A-5' \\ \uparrow \end{array}$

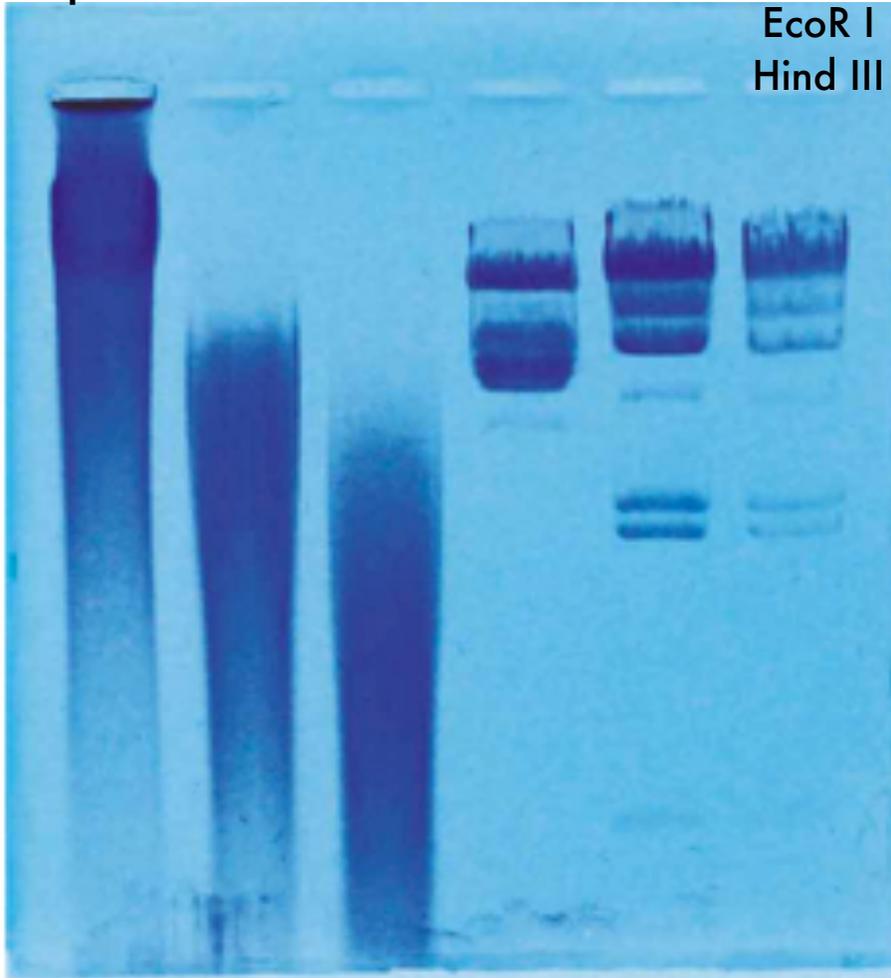
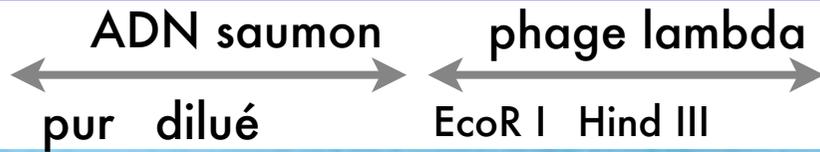
Montage



Résultats après migration et coloration



Dépôts

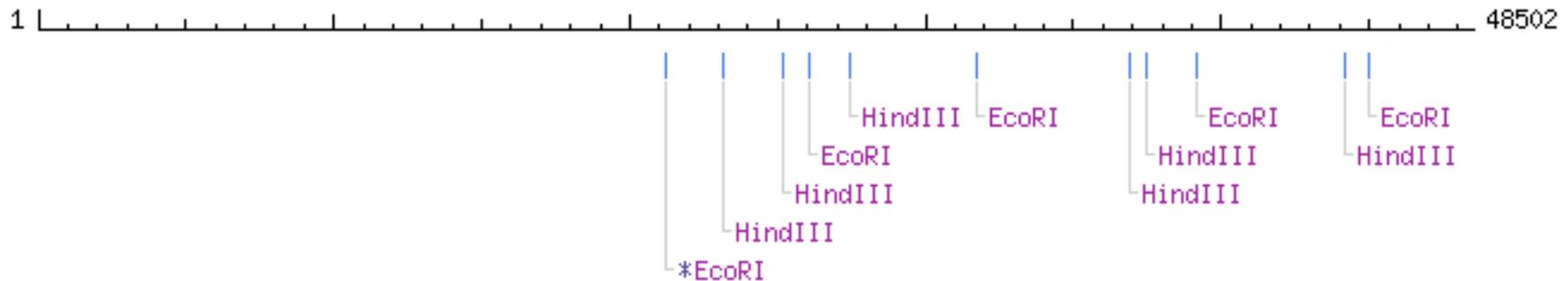
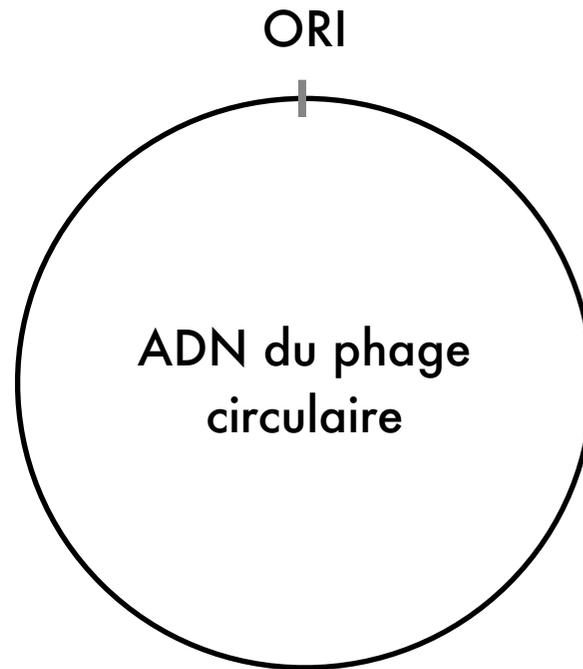


dilué
 et digéré
 par Hind III

Bandes obtenues pour les 3 derniers puits du gel d'électrophorèse :

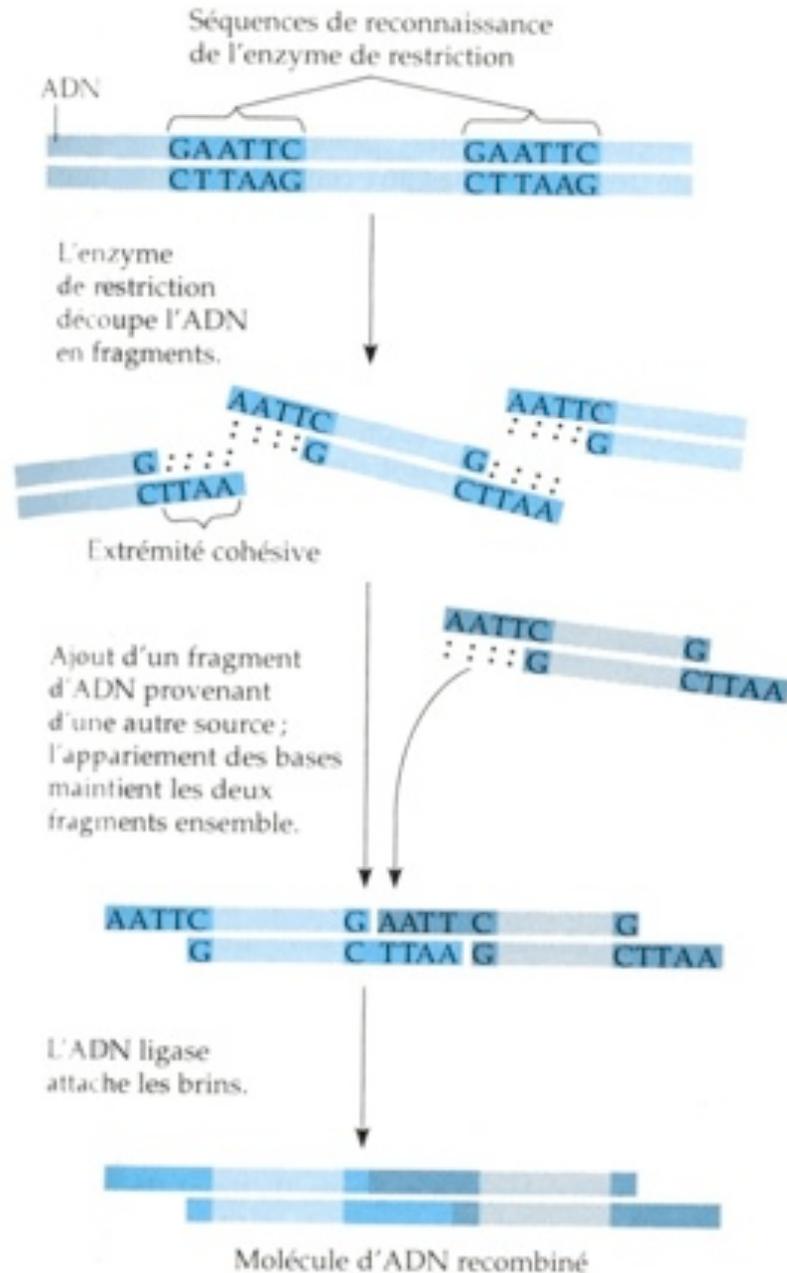
	21 226		23130		21226
	7 421		9416		
	5 804		6682		
	5 643				5148
	4 878				4973
			4361		4268
	3 530				3530
			2322		2027
			2027		1904
					1584 (1375) (947) (831) (564)
			(564)		(564)
Digéré par EcoRI		Digéré par HindIII		Double digéré par EcoRI et HindIII	

Résultat : carte de restriction



ADN du phage déroulé où le site1 correspond à l'ORI

Transgénèse : construire un ADN recombiné



Quelques vecteurs :

- plasmide
- phage
- YAC...

+ ajout d'un gène facilitant la sélection des recombinants (gène de résistance à un antibiotique, gène d'enzyme à produit coloré...)

3 Un protocole de clonage.

On veut cloner une séquence d'ADN d'un chromosome de souris dans des bactéries. Cette séquence est encadrée par deux sites de restriction reconnus par l'enzyme *Bam* HI et l'on dispose de plasmides bactériens avec un site unique de restriction pour cette même enzyme (**document 1**).

L'ADN des plasmides contient deux gènes qui confèrent à leurs bactéries hôtes une résistance à deux antibiotiques A et B. Le gène de résistance B possède un site de restriction reconnu par *Bam* HI et est inactivé lorsqu'il est coupé; la bactérie devient alors sensible à l'antibiotique.

Pour procéder au clonage de cette séquence, on mélange d'abord dans un tube les plasmides et l'ADN de souris découpés par *Bam* HI et de l'ADN ligase. On ajoute ensuite des bactéries naturellement dépourvues de plasmides et susceptibles d'intégrer les plasmides recombinés. Quelque temps après, on étale les bactéries sur un milieu de culture additionné de l'antibiotique A. Chacun des clones est séparé en deux parties; l'une est remise sur du milieu avec l'antibiotique A, l'autre sur du milieu avec l'antibiotique B selon une disposition précise et l'on observe le développement des clones (**document 2**).

Question 1

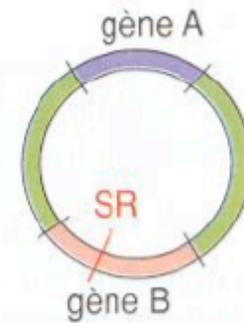
En utilisant l'ensemble des données du **document 1**, montrez à l'aide de schémas comment se forme un plasmide recombiné. Pourquoi parle-t-on de bactéries « susceptibles » d'intégrer des plasmides recombinés?

Question 2

Expliquez pourquoi la procédure représentée sur le **document 2** permet de sélectionner les clones ayant

Document 1

• L'ADN du plasmide



• L'ADN du chromosome de souris

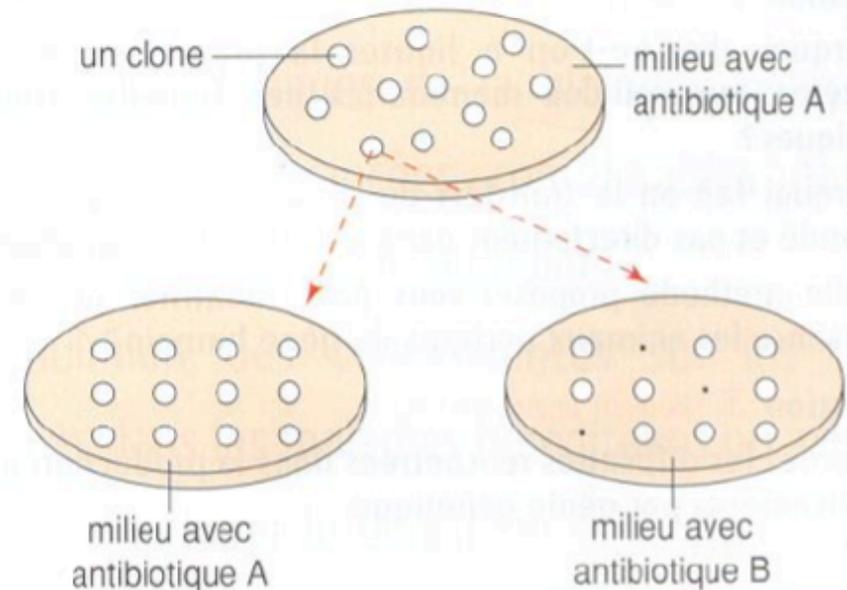


• Le site de restriction (SR)



Document 2

Étalement des bactéries



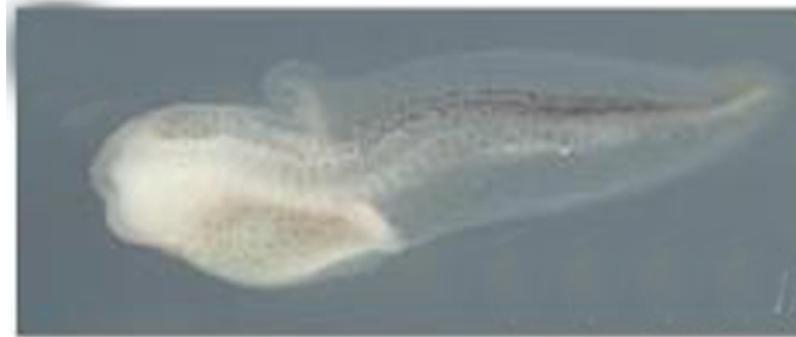
intégré l'ADN de souris. Pourquoi certains clones poussent-ils sur les deux milieux?

Etude d'un gène du développement

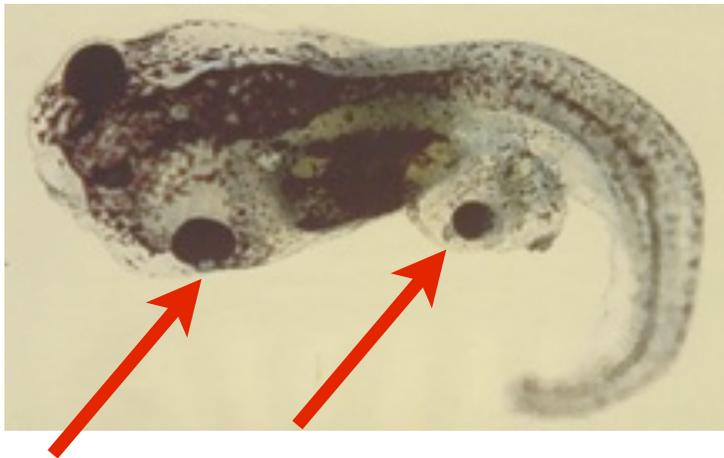
Embryons modifiés génétiquement



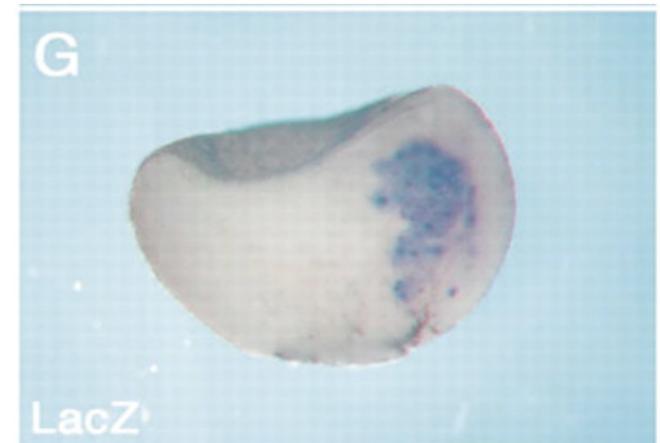
Témoin



Knock-out pour *cerberus*

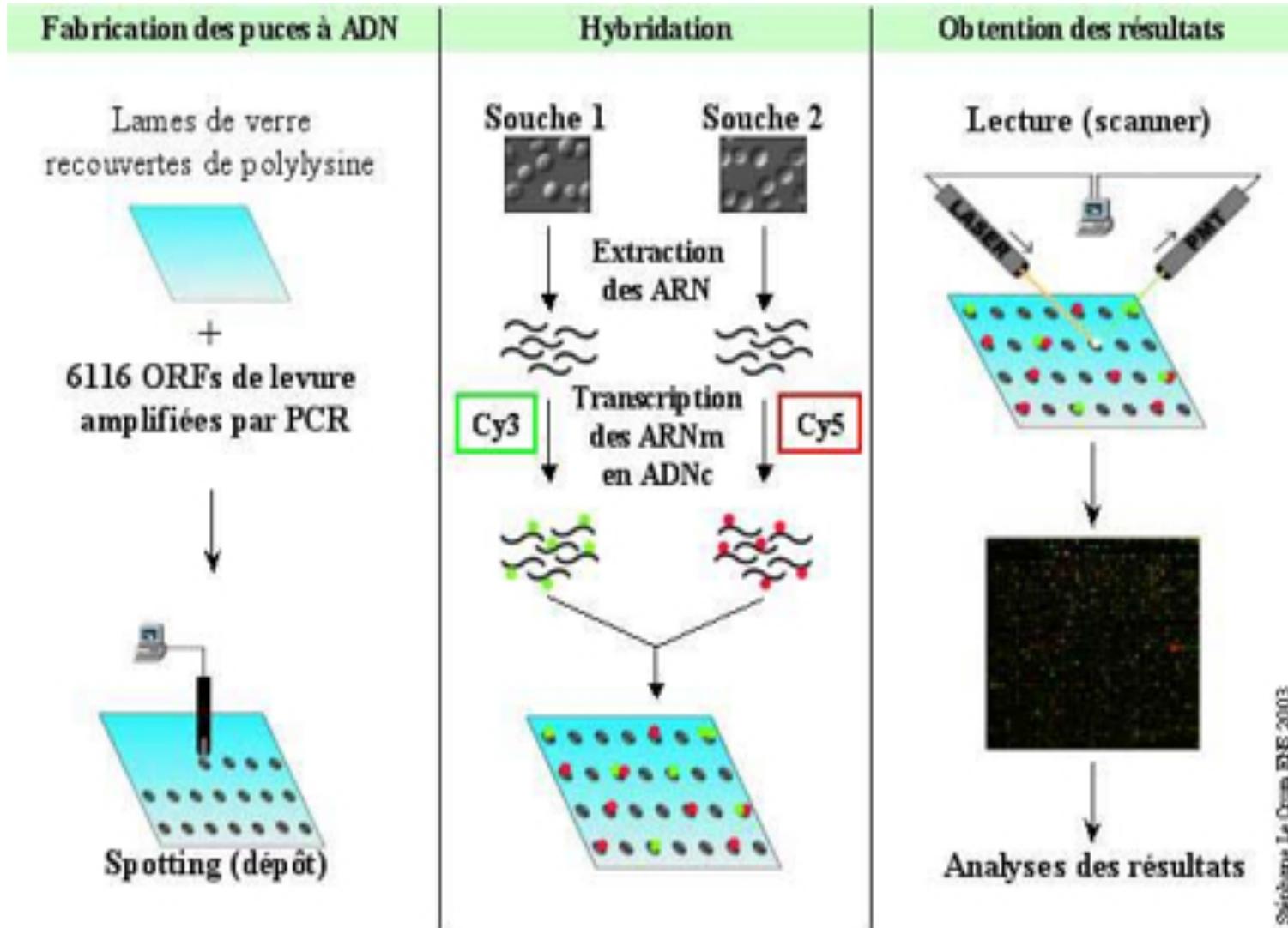


Avec 2 injections d'ARNm de *cerberus*

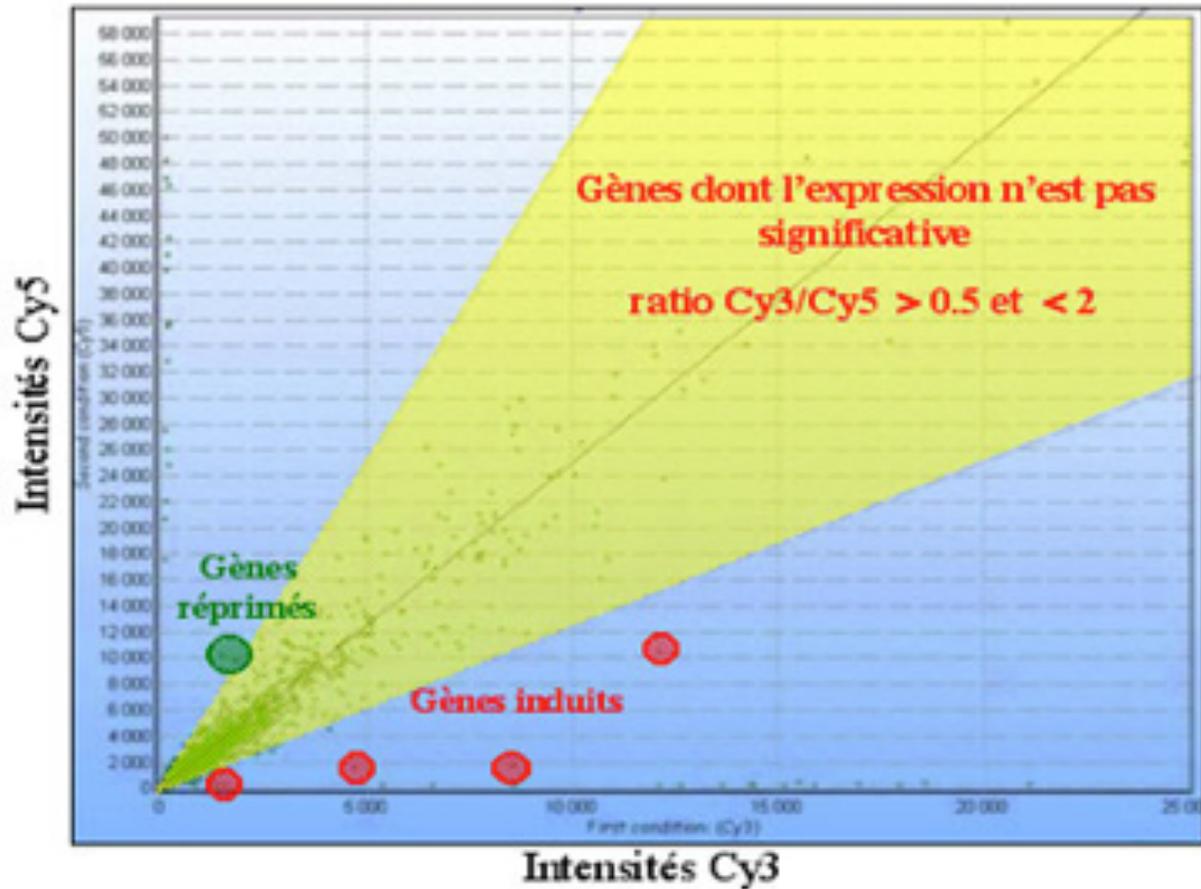


Embryon avec injection d'une construction promoteur de *cerberus* - lac Z

Puces à ADN



Résultat



Profil d'expression des gènes entre la souche 1 et 2 de levures.

On distingue les gènes réprimés ou induits chez la souche 1 par rapport à la souche 2.

Entre les deux, les niveaux d'expression des gènes sont comparables.

Exercice : puces à ARN

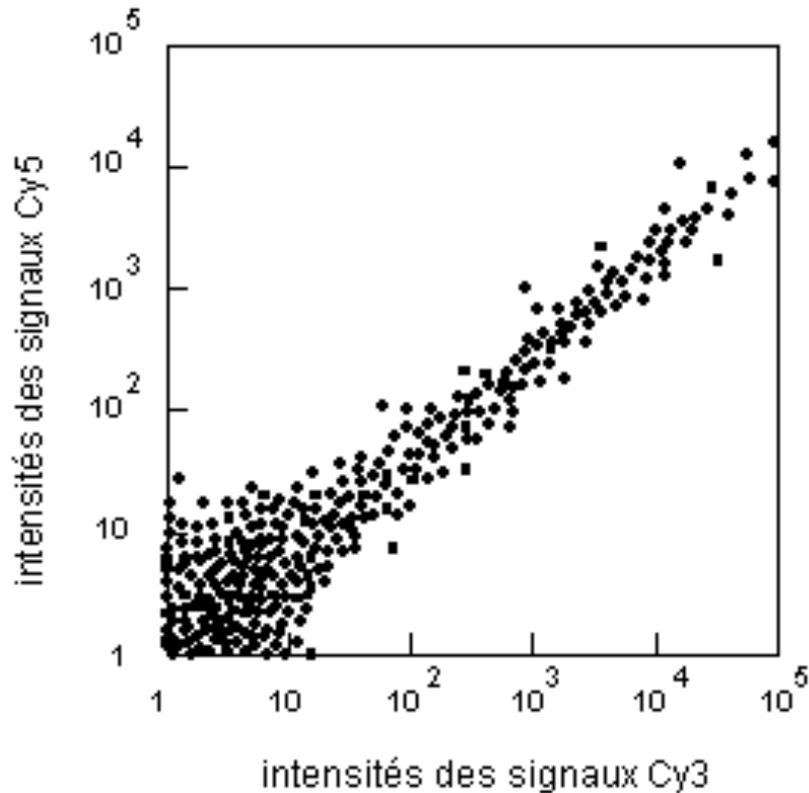


Figure 1 : Analyse de la reproductibilité de l'expérience. Deux sondes marquées, l'une au Cy3 et l'autre au Cy5, ont été réalisées à partir des mêmes ARNm de plantes cultivées dans des "conditions contrôle". Ces deux sondes, a priori identiques, ont été hybridées sur une même lame. Les intensités mesurées sont exprimées en unités arbitraires.

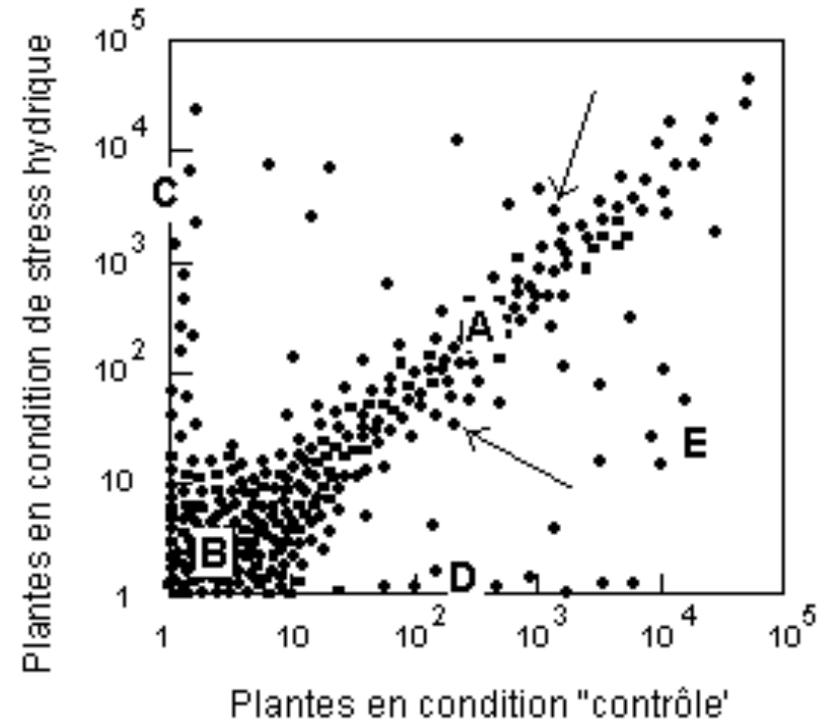


Figure 2 : Comparaison des deux traitements. La lame a été hybridée avec deux sondes réalisées à partir d'ARNm de plantes cultivées en condition contrôle (résultats de l'hybridation indiqués en abscisse) ou en condition de stress hydrique (résultats de l'hybridation indiqués en ordonnées). Les intensités mesurées sont exprimées en unités arbitraires. Les lettres et les flèches sont explicitées dans le texte.