

Exercice 01 :

Le génome d'un bactériophage à ADN double brin a été isolé et sa séquence nucléotidique a été déterminée (5000 paires de bases). Afin d'avoir plus de renseignement sur la structure de son génome, l'ADN du bactériophage est digéré par plusieurs enzymes de restriction et les fragments obtenus sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose suivi d'une coloration au bromure d'éthidium (pistes 1-5, figure 1).

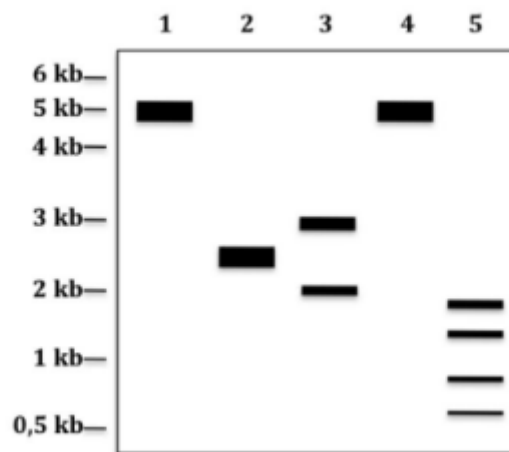


Figure 1: Electrophorèse en gel d'agarose des fragments de restriction obtenus après digestion de l'ADN du bactériophage. Piste 1: témoin, ADN non digéré ; piste 2 : EcoRI ; piste 3 : BamHI; piste 4 : HindIII ; et piste 5 : PvuII. NB : Tous les fragments obtenus sont présents sur le gel.

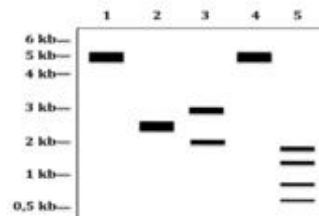
- Que pouvez-vous dire sur la structure de ce génome ? Justifiez votre réponse en interprétant tous les résultats expérimentaux obtenus à l'issue des différentes réactions de digestion effectuées.

- Donnez le nombre de fragment(s) que l'on obtiendrait lors des doubles digestions décrites dans le tableau ci-dessous :

Enzymes de restriction	Nombre de fragments obtenus
<i>Eco RI + Bam HI</i>	?
<i>Bam HI + Hind III</i>	?
<i>Eco RI + Pvu II</i>	?

Tableau 1 : Doubles digestions du génome du bactériophage.

Solution :



- 1- EcoRI : 1 sites → 2 fragments de 2500 pb
 BamHI : 1 sites → 2 fragments 2000 pb et 3000 pb.
 HindIII : pas de site.
 PvuII : 3 sites → 4 fragments 600 pb , 900 pb , 1600 pb et 1900 pb.

2-

Enzymes de restriction	Nombre de fragments obtenus
<i>Eco RI + Bam HI</i>	3
<i>Bam HI + Hind III</i>	2
<i>Eco RI + Pvu II</i>	5

Exercice 2

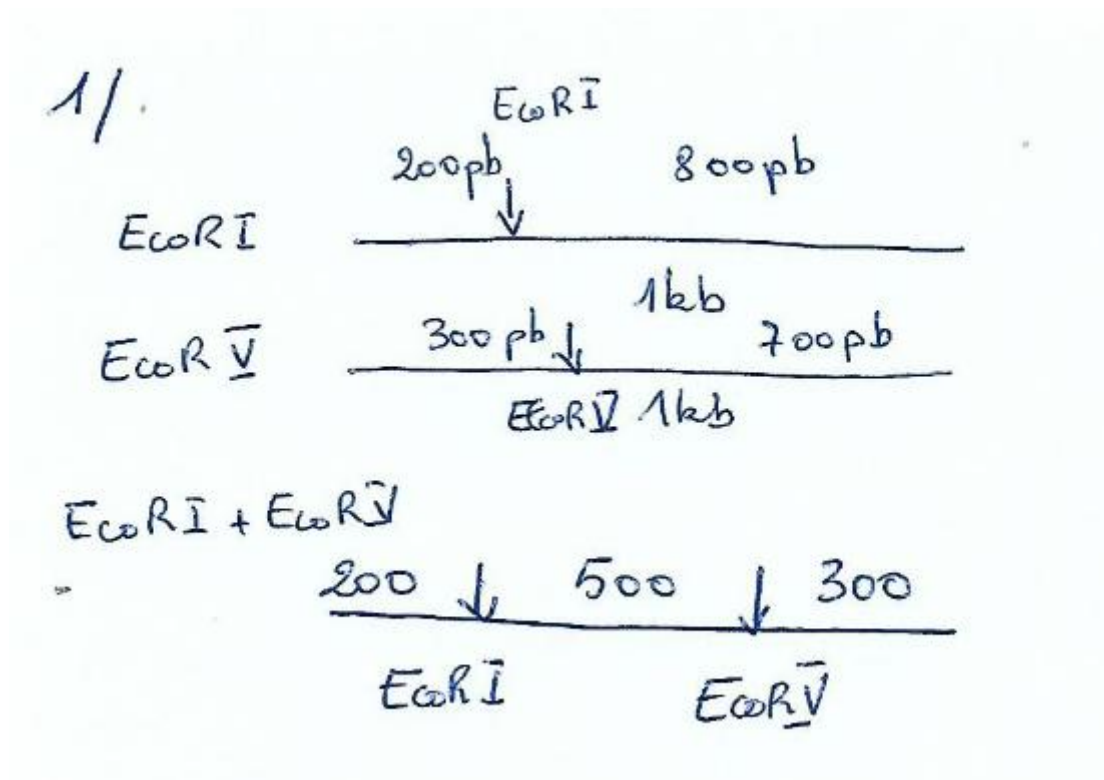
Un fragment d'ADN de 1 kb est digéré par EcoR I seule, puis par EcoR V seule, enfin par les 2 enzymes ensemble. Le profil électrophorétique des produits de digestion donne :

EcoRI : 800pb 200pb

EcoRV : 700pb 300pb

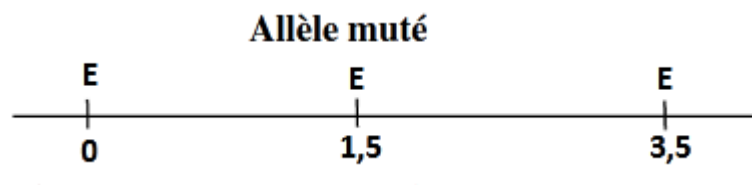
EcoRI+EcoRV : 500pb 300pb 200pb

Solution



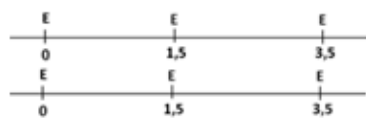
Exercice 03:

Une maladie génétique est associée à une mutation d'un gène de 3,5Kb et n'apparaît qu'en cas de mutation bi-allélique. La mutation crée un nouveau site de coupure d'une enzyme de restriction (E) qui donne 2 fragments avec l'allèle muté (figure).

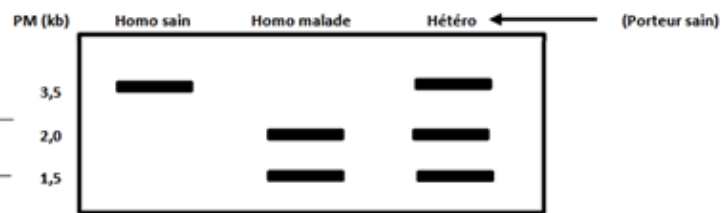


- donner la carte restriction des deux allèles pour un malade ?
- Donner le résultat du RFLP des trois génotypes homozygote sain, homozygote malade et hétérozygote ?
- Même question pour un individu porteur sain ?

Solution:



Carte de restriction



Profil RFLP