

Module : Biologie Moléculaire

Niveau : Master II

Spécialité : Biochimie Appliquée

TD 5 et 6 : Cartographie physique et génétique

Exercice 1

On croise deux drosophiles :

Phénotypes obtenus :

Goûts normaux / Ailes normales : 290

Goûts altérés / Ailes atrophiées : 310

Goûts normaux / Ailes atrophiées (recombinants) : 50

Goûts altérés / Ailes normales (recombinants) : 40

1. Calculer Le taux de recombinaison
2. Calculer La distance génétique entre les gènes goût et aile

Exercice 2 :

On étudie une population de drosophiles portant deux gènes liés :

y : couleur du corps (jaune)

w : couleur des yeux (blanc)

Une femelle hétérozygote $y^+ w^+ / y w$ est test-crossée avec un mâle $y w$. Après un premier croisement, on observe : Phénotype Nombre

Sauvage ($y^+ w^+$) 850

Double mutant ($y w$) 800

$y^+ w$ 200

$y w^+$ 150

Mais on suspecte une sélection contre le phénotype $y w^+$, car ces individus survivent moins.

De plus, on réalise un second croisement identique, mais cette fois sans sélection, et on observe .Phénotype Nombre

Sauvage 900

Double mutant 920

$y^+ w$ 100

$y w^+$ 80

Partie A Analyse sans sélection (seconde expérience)

1. Identifier les parentaux et recombinants.
2. Calculer le taux de recombinaison réel entre y et w.
3. Donner la distance génétique.

Partie B (première expérience)

4. Montrer que la sélection fausse la distance génétique.
5. Calculer le taux de recombinaison apparent.

Partie C

6. Pourquoi la cartographie génétique doit être réalisée sans pression sélective ?
7. Donner deux conséquences possibles d'une telle erreur en génétique médicale.

Exercice 3 : Clonage

On souhaite cloner le gène GFP (Green Fluorescent Protein) dans le plasmide pUC19 afin de permettre son expression chez E. coli.

Données :

Le plasmide pUC19 possède un site EcoRI et un site HindIII dans son polylinker. Le gène GFP a été amplifié par PCR, et les amorces intègrent les sites :

EcoRI en 5'

HindIII en 3'

Les enzymes de restriction utilisées sont : EcoRI et HindIII. Une ligase (T4 DNA ligase) est utilisée pour la ligation.

1. Indique les étapes du clonage du gène GFP dans le plasmide pUC19, dans le bon ordre. Les étapes suivantes doivent apparaître :

- ☐ Digestion du plasmide
- ☐ Digestion du gène PCR
- ☐ Purification
- ☐ Ligation
- ☐ Transformation
- ☐ Sélection sur antibiotique

2. Pourquoi a-t-on ajouté les sites EcoRI et HindIII dans les amorces PCR ?

3. Lors de la digestion, pourquoi utiliser deux enzymes de restriction et non une seule ?

4. Comment vérifier que le clonage a réussi chez les colonies obtenues ? Citer deux méthodes.

5. Sur un schéma simple, représente :

- Le plasmide pUC19 avant clonage---- le gène GFP----- la coupure par EcoRI/HindIII--
---- l'insertion dans le vecteur