

Université des Sciences et Technologies de Lille

Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, UMR CNRS/USTL 8576

Licence de Biochimie

UE Biochimie 9 : Expression des gènes et bases de la biologie moléculaire

2^{ème} session, juin 2005

Les documents et les calculatrices ne sont pas autorisés.

Les questions sont à traiter sur des copies séparées

Question 1 : Comparer l'initiation de la traduction chez les Procaryotes et les Eucaryotes.
(20 points). → copies blanches

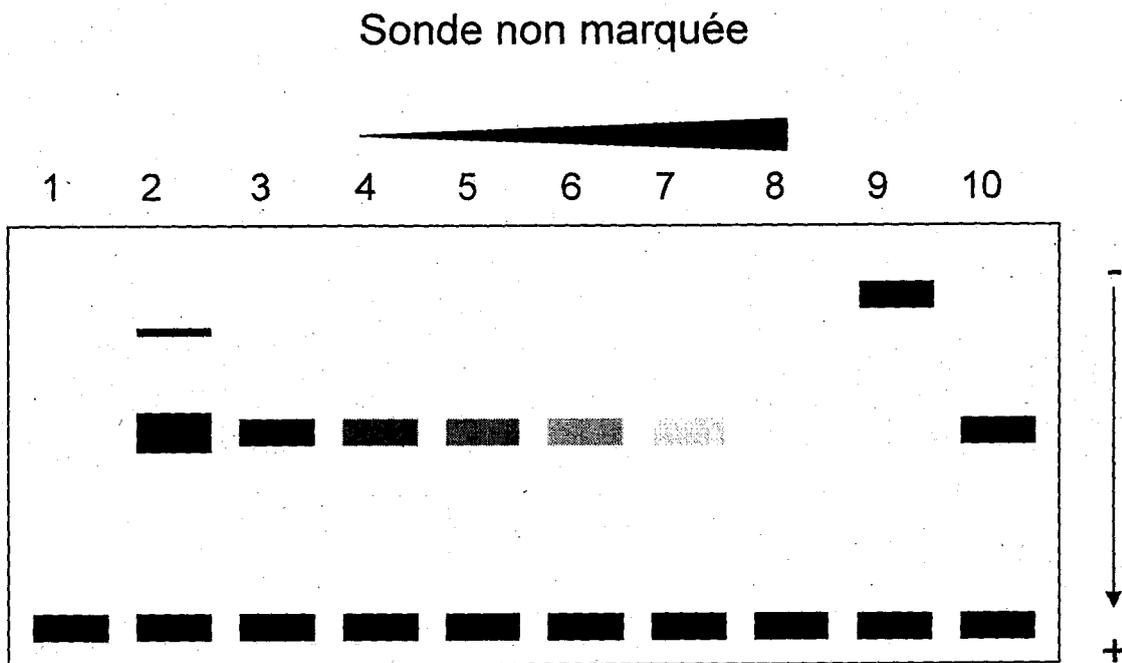
Question 2 : Décrire les différentes étapes de la mise en place de la fourche de réplication chez les procaryotes (20 points). → copies bleues

Question 3 : question de TD (20 points) : Voir pages suivantes → copies roses

Question de TD (20 points)

1. Citer les trois méthodes permettant d'étudier les facteurs de transcription impliqués dans l'activité du promoteur d'un gène d'intérêt. Justifier votre réponse. (3 points)
2. Pour réaliser une expérience d'EMSA, un extrait protéique nucléaire est incubé dans un tampon de faible force ionique à pH 7,5 en présence d'une protéine neutre, de détergeant non-ionique, de DTT, d'EDTA, de glycérol, de poly(dIdC) et de la sonde oligonucléotidique double brin radiomarquée. Le tout est incubé à température ambiante pendant 30 min puis déposé sur un gel de polyacrylamide non-dénaturant.
 - Préciser le rôle de chaque élément souligné pour la réalisation de l'expérience EMSA. (3 points)
 - La sonde utilisée est un oligonucléotide double brin. Décrire une méthode permettant de marquer radioactivement cette sonde. Quel type d'ATP marqué au P^{32} devez-vous utiliser. (3 points)

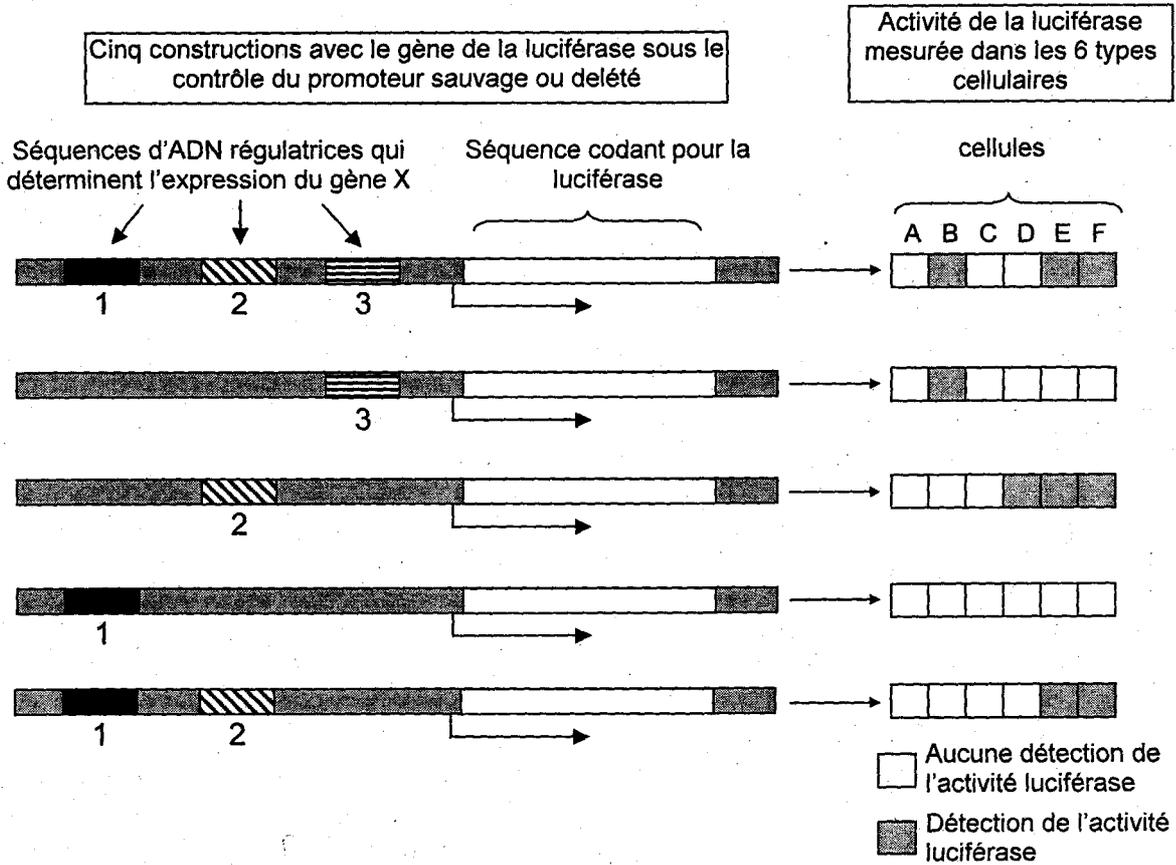
Après migration, la révélation se fait sur film d'autoradiographie. Le résultat est le suivant :



- 1 : sonde radiomarquée seule
- 2 : sonde marquée + extrait nucléaire
- 3 : sonde marquée + extrait nucléaire + poly(dIdC)
- 4 à 8 : sonde marquée + extrait nucléaire + poly(dIdC) en présence de concentrations croissantes en sonde non marquée
- 9 : sonde marquée + extrait nucléaire + poly(dIdC) + anticorps anti-Oct1
- 10 : sonde marquée + extrait nucléaire + poly(dIdC) + anticorps anti-NFκB

Interpréter les résultats obtenus pour les différentes pistes du gel. Préciser à quoi correspond les différentes bandes détectées. Que pouvez-vous conclure de ces différentes observations? (5 points)

3. Pour étudier l'activité transcriptionnelle d'un promoteur dans différents types cellulaires, on décide de transférer dans ces cellules un vecteur codant pour un gène rapporteur. Ce gène rapporteur est sous le contrôle du promoteur d'intérêt délété ou non dans différentes régions. Les résultats obtenus sont les suivants :



Interpréter les résultats et préciser les activités des séquences 1, 2 et 3 du promoteur d'intérêt dans l'expression du gène X. (6 points)
