**Exercice 1** La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie des globules rouges qui sont déformes par une cristallisation anormale de l’hémoglobine. Cette cristallisation résulte d’une substitution A→T dans le sixième codon. Cette substitution s’exprime par une mutation Glu6→Val de la chaine β de la globine. L’électrophorèse de l’ADN du gène HBB, qui code pour la chaine β des globines est révélée par deux sondes : l’une spécifique de la séquence normale, l’autre de celle de la protéine mutée (ASO = *Allele Specific Oligonucleotide*).



* interpréter ces résultats

**Exercice 2**



**1.** Quelles sont les liaisons de faible énergie qui stabilisent la structure en double hélice de l’ADN ?

**2.** L'ADN est extrait de 2 espèces bactériennes distinctes. L'analyse de la composition en bases est la suivante:

Espèce 1: A=32%. Espèce 2: A=17%. Les deux échantillons sont chauffés lentement et la densité optique à 260 nm est suivie en parallèle.

A quelle courbe correspond l'espèce 1? Et l'espèce 2?

-Une des deux espèces a été extraite d'une source chaude à 64°C (bactérie thermophile). Identifiez-la et justifiez votre réponse.

-L'expérience précédente a été réalisée dans une solution de NaCl= 0,1M. Quel sera le résultat de l'expérience si l'ADN est dissout dans de l'eau?

**3**- Soit le brin d’ADN 5’GGATCCGATGGAATTC3’

Parmi les molécules suivantes, quelles sont celles capables de s’hybrider avec ce brin d’ADN pour former une double hélice ? Calculer le Tm pour ce fragment.

5’…………TTAGAATTCCATCGGATCCTAG……..3’

5’GAAUUCCAUCGGAUCC3’

5’GGCTAGTTTCCGATATC3

**EXERCICE**

**1-4** la carte de restriction du plasmide PGPS 2 linéarisé par Not I et traité par la phosphatase alcaline est donnée dans le **document n :1**

* Pourquoi on utilise la phosphatase alcaline.
* schématiser le résultat de la séparation par électrophorèse des fragments obtenus après digestion totale de pGPS 2 par : AsiSI , I-Cre I et AsiSI+ I-CreI
* Indiquer la taille des fragments obtenus et nommer les électrodes.



**Exercice1 :**

Vous disposez d’un brin d’ADN à séquencer (matrice), d’une amorce, d’ADN polymérase, des quatre 2’- désoxyribonucléotides (dXTP) et d’un jeu des différents 2’,3’-didésoxyribo-nucléotides (ddXTP). L’amorce est radiomarquée par du phosphore radioactif 32P. L’ADN matriciel à séquencer AGCACGTAATCGC---- comporte, à son extrémité 3’, une séquence supplémentaire (représentée ici par un segment de droite en pointillé) sur laquelle l’amorce va s’hybrider, créant ainsi le site d’initiation de l’ADN polymérase.

1 - Résumez brièvement le principe de la méthode en indiquant le rôle du didésoxyribonucléotide.

2- Compléter un tableau en indiquant la composition des différents milieux réactionnels et, pour chaque milieu, le type et la taille des fragments néosynthétisés .

3- Schématisez le résultat de la migration des produits obtenus pour chaque mélange réactionnel.

4- Reporter, à droite, la séquence du brin synthétisé puis la séquence recherchée, en indiquant le sens de lecture des séquences établies.

**Exercice2 :**

Parmi les séquences oligonucléotidiques suivantes lesquelles vous paraissent susceptibles d’hybrider avec le fragment d’ADN ci après.

Oligo 1 : 5’ CGGGCACCCGGGTTA 3’

Oligo 2 : 5’ CCCGGGGATCCCGGG 3’

Oligo 3 : 5’ GACTGATCTGACATG 3’

Oligo 4 : 5’ GAGAAACTGACTGAC 3’ 5’ATCGGTGATCTGCAGTCCCGATCGGGCACCCGGGTTAGCGATCGTTTAATGGGTCGG

CCCGGGGATCCCGGGCCTGGACTGA TCTGACATGGTGTCAGTCAGTTTCTC 3’

Vous réalisez un séquençage de ce fragment d’ADN par la méthode de Sanger avec l’amorce oligonucléotidique simple brin suivante :

5’ TCAGATCAGTCCAGG 3’.

1. Schématisez l’autogradiographie du gel de séquençage que vous devriez obtenir