

EPREUVE DE L'UE 1 "TECHNOLOGIES EN BIOLOGIE MOLECULAIRE"
LICENCE PROFESSIONNELLE
Durée de l'épreuve 1 hr

Toutes les questions sont indépendantes.

Vous souhaitez réaliser une expérience de Southern. Vous avez préparé votre sonde par PCR. Celle-ci couvre toute la longueur (1047 pb) du gène ADH2, alcool déshydrogénase 2, de la levure.

1) Sachant que la limite de détection est de 0,2ng d'ADN, quelle quantité minimum d'ADN génomique devez vous utiliser pour réaliser votre Southern ?

A partir de 10ml de culture de levure à 20 unités de DO_{600nm}/ml vous avez extrait 10 μ g d'ADN.

2) Sachant que 1 unité de $DO_{600nm}/ml = 2.10^7$ cellules/ml, calculer le rendement de votre extraction.

Dans le génome de la levure il existe un autre gène, ADH5, qui est 77% identique à ADH2.

3) Si vous ne souhaitez pas détecter ce gène avec votre sonde, citez deux paramètres de l'hybridation qui vont vous permettre d'arriver à vos fins. Dans quel sens allez vous les modifier ?

Le gène ADH2 est exprimé lorsque les cellules de levure croissent sur l'éthanol, mais est réprimé lorsque les cellules croissent sur glucose. L'expression du gène ADH5 est tout le contraire.

4) L'ADN utilisé provient de cellules qui ont poussé sur glucose. Dans des conditions d'hybridation où vous pouvez détecter ADH2 et ADH5, quelle influence cela aura-t-il, a priori, sur le résultat du Southern ?

5) Si vous souhaitez comparer dans une même expérience, l'expression de tous les gènes de la levure dans deux conditions différentes (ex, croissance sur glucose et sur éthanol), quelle technique allez vous utiliser ? Rappelez son principe.

Notes:

Taille du génome de la levure: 13.10⁶ pb

Masse molaire d'un nucléotide : 310g/mol

Nombre d'Avogadro : 6,02. 10²³

pb : paire de base