

Examen de TP hybridation
UE 1 « Technologies en Biologie Moléculaire »
Licence Professionnelle
Durée de l'épreuve 1 heure

1) Vous souhaitez cloner un fragment d'ADN dans un plasmide présentant une sélection de type blanc / bleu chez la bactérie. Suite à votre transformation vous obtenez des colonies blanches et bleues.

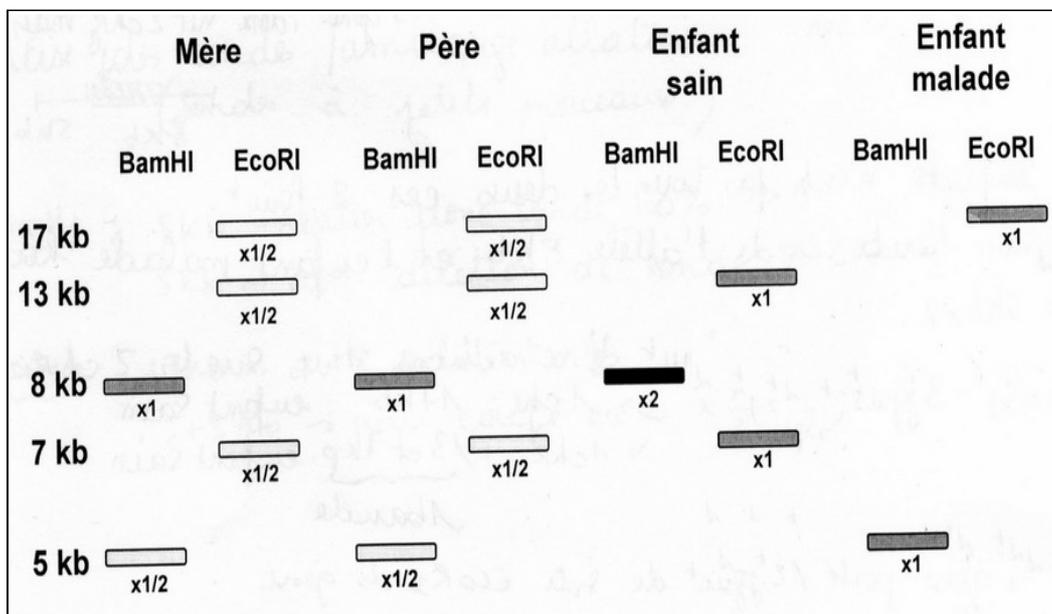
Proposez trois approches expérimentales pour vérifiez que vous avez bien cloner votre fragment. Quels sont les avantages et inconvénients de chacune de ces approches.

2) Définissez le T_m ? Citez 4 paramètres qui peuvent influencer le T_m . Comment affectent-ils le T_m ?

Quel est le T_m de l'oligonucléotide suivant : $5' \text{ GGAACAATGATTCCATCTAG } 3'$

3) Une maladie génétique a été diagnostiquée dans une famille. De l'ADN génomique provenant des parents, tous les deux sains, et de leurs enfants, un enfant sain et un enfant malade, ont été digérés par BamHI ou EcoRI puis soumis à une expérience de Southern en utilisant une sonde marquée par amorçage aléatoire correspondant au gène supposé responsable de la maladie. La quantité d'ADN génomique déposée dans chaque puits est la même. Les résultats sont présentés sur le schéma suivant :

(x1/2, x1, x2 : intensités relatives des bandes d'hybridation)



a. Quelles conclusions pouvez-vous tirer de cette expérience ? (L'homme est un organisme diploïde).

b. Quelle(s) hypothèse(s) pouvez-vous faire sur le type de mutation responsable de la maladie ?

c. Proposez une expérience qui permettrait de vérifier votre hypothèse.

d. Expliquer l'intensité relative des bandes d'hybridation.