

DFGSP2-UE4
SCIENCES BIOLOGIQUES 2
Module BIOLOGIE
MOLECULAIRE (2024-2025)

Enseignements Dirigés N°1

• **Exercice-1 : PRPP synthétase**

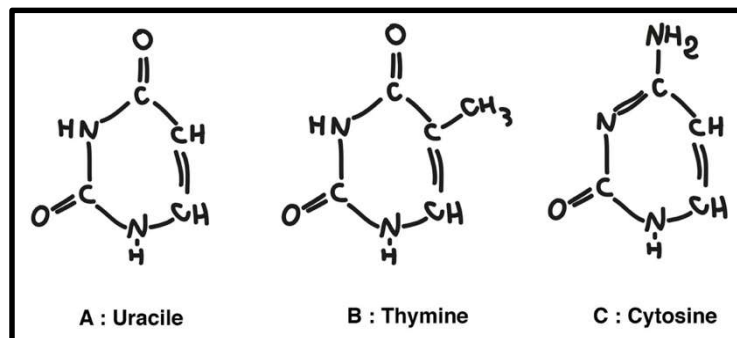
En quoi la PRPP synthétase est une enzyme centrale du métabolisme des nucléotides ? Définissez ses substrats et produits ainsi que les mécanismes de régulation.

• **Exercice-2 : HGPRT**

Dans quelle voie métabolique est impliquée l'enzyme Hypoxantine-Guanine-Phosphorybosyl-Transférase ? A l'aide d'un schéma vous détaillerez ses substrats et les produits de son activité.

• **Exercice-3 : métabolisme de la thymine**

Les molécules représentées figure 1 sont, pour rappel, les représentations de l'Uracile (fig1.A), de la Thymine (fig1.B) et de la Cytosine (fig1.C).



- **Question 1** : de quelle famille de bases font partie ces molécules ?

- **Question 2** : Par un schéma, représentez comment le **dTMP** est obtenu dans la voie de **synthèse de novo** et indiquez l'emplacement et le nom des **deux enzymes majeures** de cette voie de synthèse. Vous indiquerez les noms d'au moins **deux inhibiteurs** connus permettant d'inhiber cette voie de synthèse de novo du dTMP.

• **Exercice-4 : Propriétés physico-chimiques des acides nucléiques**

Des cellules eucaryotes vous sont fournies sous forme d'un culot cellulaire. Il vous est demandé d'en extraire l'ADN génomique et de le doser.

Indiquer la méthode à suivre en précisant chaque étape et la propriété physico chimique sur laquelle elle repose.

• **Exercice-5 : réplication de l'ADN.**

Meselson et Stahl ont démontré que la réplication suit un modèle semi-conservatif. Vous expliquerez les trois modèles possibles de réplication et par quelle méthode Meselson et Stahl ont pu trancher.

• **Exercice-6 : PCR (4 points)**

Soit la séquence suivante :

5'-----ATGCATGGATCTATG-----AATGGGCGCTTATGC-----3'

Il vous est demandé d'amplifier la séquence en utilisant les éléments de séquences connus et indiqués. Vous devez commander des oligonucléotides de 15 mers afin de réaliser une PCR sur cette séquence.

- **Question 1** : Donnez la séquence des oligonucléotides (amorces) de 15 mers que vous devrez commander (de 5' vers 3').

- Oligo-1 : 5'-

- Oligo-2 : 5'-

- **Question 2** : Il vous est finalement demandé de prévoir vos oligonucléotides de telle sorte que vous ajouterez un site BamHI (5'-GGATCC-3') en 5' et un site EcoRI (5'-GAATTC-3') en 3' des amplicons. Donnez la séquence des oligonucléotides (amorces) de 21 mers que vous devrez commander (de 5' vers 3').

- Oligo-3 : 5'-

- Oligo-4 : 5'-

• **Exercice-7 : PCR quantitative (Des réponses claires et succinctes sont attendues).**

- **Question 1** : Composition du mélange réactionnel.

- **Question 2** : Principe d'une PCR quantitative en temps réel à base de Sybr-green (molécule fluorescente lorsqu'elle est intercalée dans une double hélice d'ADN).

- Vous schématiserez le principe de la PCR en temps réel.

- Vous indiquerez ce qui est mesuré et en quoi cette technique est plus informative qu'une PCR classique.

- Vous expliquerez la notion de Ct

- **Question 3** : Expliquez ce qu'est la courbe de fusion, comment elle est obtenue en fin de PCR en temps réelle et ce qu'elle fournit comme information. (2 points).

Exercice-8 :

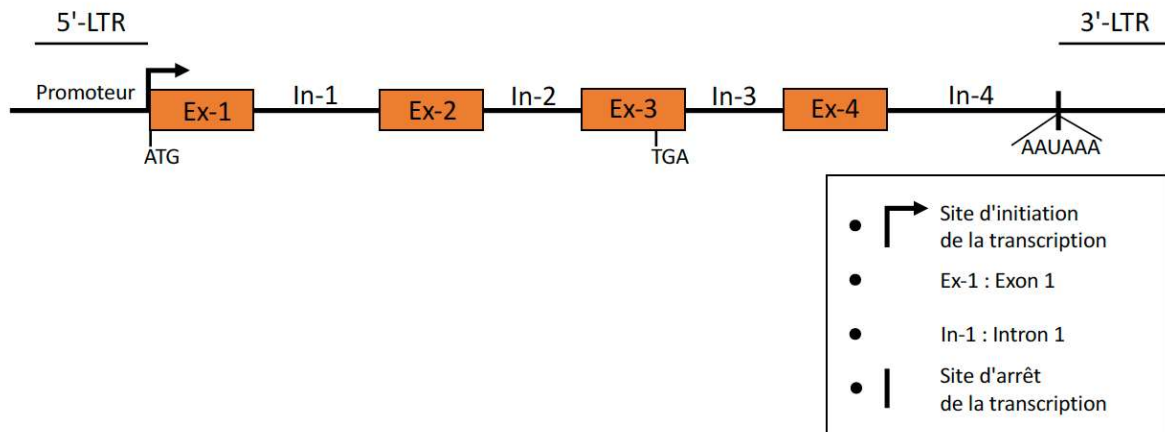
- 1- L'Hyoxantine est la base de l'Inosinate. -----
- 2- La guanosine est un nucléotide dont la base azotée est une guanine.-----
- 3- La première réaction de biosynthèse des nucléotides puriques nécessite le PRPP.-----
- 4- L'acide orotique est le premier nucléotide synthétisé dans la voie des pyrimidines.-----
- 5- L'Acide Urique est un déchet du catabolisme des nucléotides puriques.-----
- 6- L'allopurinol est un inhibiteur de l'Adénosine Déaminase.-----
- 7- Un nucléosome est composé d'un hexamère d'histones et d'environ 200pb d'ADN double brin.-----
- 8- La séquence 5'-TTAAGGAATT-3' est un palindrome.-----
- 9- Sur la double hélice d'ADN composant un chromosome, un des brins est toujours le brin codant sur toute la longueur du brin.-----
- 10- Le 5 Fluoro Uracile est un inhibiteur de la Thymidine Kinase.-----
- 11- Les désoxyribonucléotides dérivent de la réduction de ribonucléosides triphosphates.-
- 12- Le % en GC d'un ADN db de $T_m = 75^\circ\text{C}$ est inférieur au pourcentage en GC d'un ADN db de $T_m = 70^\circ\text{C}$.-----
- 13- Il existe des gènes eucaryotes dépourvus d'exons.-----
- 14- Un régime pauvre en viande rouge permet de réduire l'apport excessif de purines.-----
- 15- Lors de la réplication l'ADN polymérase lit le brin matrice parental de 3' vers 5'.-----

Enseignements Dirigés N°2

• Exercice-1 : synthèse et réflexion.

Un chercheur clone la partie codante d'un gène humain dans un vecteur d'expression afin de faire produire une protéine recombinante humaine par la levure *S. Cerevisiae*. Notre chercheur réalise que les levures, du fait d'une production limitée de certains ARNt, n'utilisent pas avec la même fréquence que l'humain un certain nombre de codons. Ainsi *H. Sapiens* utilise plutôt le codon UGC pour l'AA Cystéine alors que la levure utilise plutôt le codon UGU. Quelle(s) solution(s) proposez-vous pour contourner ce problème ? Plusieurs propositions sont possibles, ce n'est pas une question de cours.

• **Exercice-2** : Il est demandé à un étudiant de schématiser une unité de transcription eucaryote. Voici le schéma produit.



Ce schéma contient 6 erreurs. Indiquez lesquelles et pourquoi ce sont des erreurs. Faites un nouveau schéma corrigé.

• Exercice-3 : Base excision repair

La désamination oxydative de la cytosine est un dommage courant de l'ADN. Ce dommage est réparé par le Base Excision Repair.

- **Question 1** : Indiquez le nom des 4 activités enzymatiques impliquées dans ce mécanisme de réparation.

Des régions particulières du génome, jouant dans la régulation de l'expression de certains gènes, sont les cibles de mécanismes de méthylation sur les cytosines. Ces régions, appelées îlots CpG, sont des répétitions de dinucléotides CG. Ce sont des régions connues pour être des sites où les taux de mutations sont particulièrement élevés. En effet, la désamination oxydative d'une cytosine méthylée en 5 (5-méthyl Cytosine) n'est pas réparée.

- **Question 2** : D'après vous **pourquoi** ce dommage spécifique n'est-il pas pris en charge par une machinerie de réparation ? Vous indiquerez la **nature des mutations** qui découlent de cette absence de réparation. Si vous ne savez pas, aidez-vous de la figure 1 pour réfléchir...

• Exercice-4 : Réparation de l'ADN

La cassure simple brin de l'ADN est le dommage à l'ADN le plus fréquent. Elle est reconnue par un mécanisme spécifique impliquant une famille d'enzymes appelées PARP (poly(ADP-ribose) polymérase).

Si on inhibe cette famille d'enzymes :

- **Question 1** : quelles peuvent être les conséquences lors de la réplication ?
- **Question 2** : Quels sont alors les mécanismes mis en jeu ?
- **Question 3** : En quoi l'inhibition de PARP peut être d'un intérêt thérapeutique?

• Exercice-5 : synthèse et application, méthodes hospitalières - Facteur V Leiden

Le facteur V de la coagulation est un élément au cœur de l'activation de la coagulation, régulé à l'inverse par un autre facteur, la protéine C activée dont l'action anticoagulante est liée à l'hydrolyse du facteur V & VIIIa. Environ 3 à 5 % de la population sont porteurs d'une mutation héréditaire conduisant au remplacement en position 506 d'une arginine par une glutamine (p.Arg506Gln ou p.R506Q) modifiant le site de clivage du facteur V par la protéine C activée (PCa).

La résistance à la protéine C activée (RPCa - test biologique) reflète dans 90 à 95 % des cas, une mutation unique sur le gène codant le facteur V de la coagulation. En cas de test positif, la mutation doit être recherchée.

- **Question 1** : Quels sont les risques encourus par cet individu? Les risques sont ils différents selon qu'il s'agit d'un homme ou d'une femme?
- **Question 2** : Quels documents seront requis pour procéder à ces analyses?
- **Question 3** : A partir de quel type de prélèvement (quel tissus) seront réalisées les analyses génétiques?
- **Question 4** : Sur quel type d'acide nucléique (ADN ou ARN) sera recherchée cette mutation?
- **Question 5** : Citez 3 techniques qui permettraient de mettre en évidence la présence d'une mutation.
- **Question 6** : En cas de présence de mutation, y a-t-il un intérêt de proposer ce test aux apparentés ?

- **Exercice-6** : Soit l'arbre généalogique suivant. Après analyse, indiquer la nature du mécanisme héréditaire en justifiant. Seule la **justification** permettra de prendre votre réponse en compte.

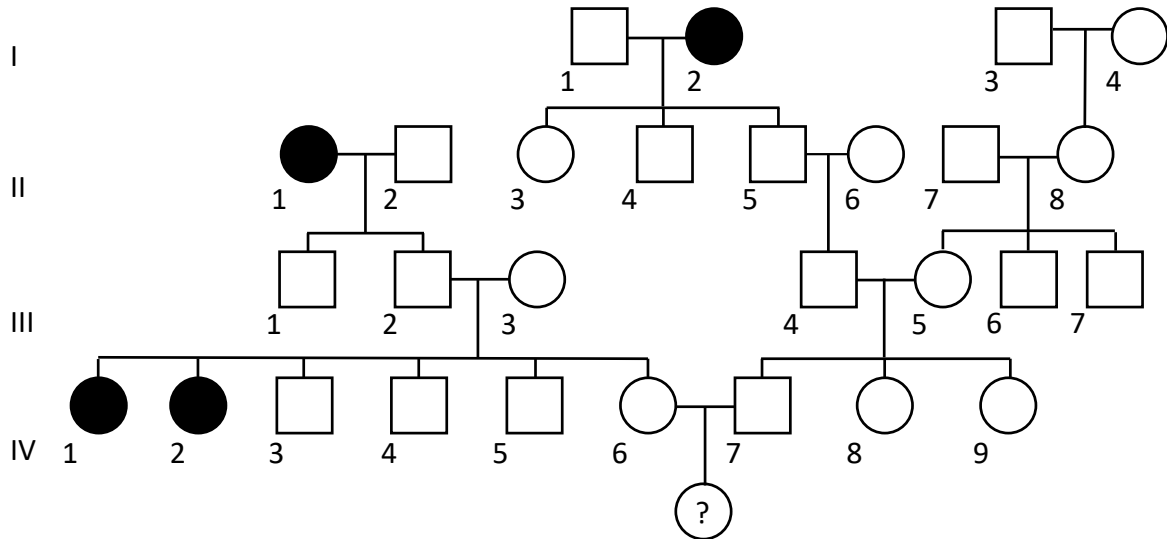


Figure 1 : Arbre généalogique établi à partir des individus IV-6 et IV-7

- **Exercice-7 : Pédigrée. Les réponses non justifiées ne seront pas comptabilisées.**

Un couple se présente en consultation de génétique pour un conseil. Les familles de ce couple sont touchées par une pathologie invalidante dont l'origine est monogénique.

Côté maternel :

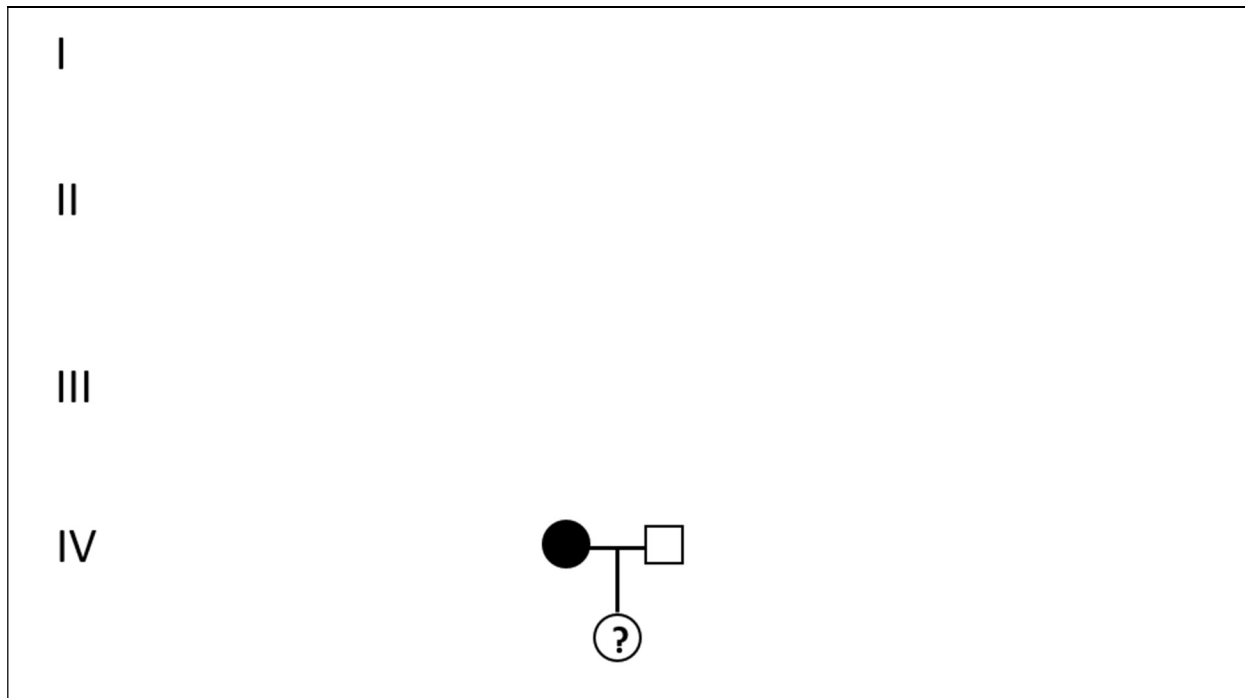
- La femme du couple est atteinte de cette pathologie et est enceinte d'une petite fille.
- Aucun des parents du couple ni membres des fratries des parents du couple ne sont atteints par cette pathologie.
- La grand-mère maternelle de la femme était atteinte.
- Cette grand-mère a eu deux filles non atteintes.
- Une de ces deux filles est la mère de la femme du couple et elle a également donné naissance à trois garçons, les frères de la femme du couple, dont aucun n'est atteint.

Côté paternel :

- L'homme du couple n'est pas atteint, ni ses deux sœurs.
- Son père n'était pas atteint, ni les deux sœurs de son père.
- Aucun de ses grands-parents n'étaient atteints.
- Seule la grand-mère maternelle de sa mère, donc l'arrière-grand-mère de l'homme du couple, était atteinte de ce côté de la famille.

Question 1 : En fonction des informations qui vous sont fournies établissez l'arbre généalogique du couple en consultation (représenté en bas de la case ci-dessous). Les individus pour lesquels aucune indication n'est fournie seront considérés comme sains.

(Petit rappel, femme = ○ ; homme = □ , si l'individu est atteint le symbole est plein, sinon le symbole est vide)



Question 2 : Indiquez le mode de transmission héréditaire. **Seules les justifications permettront de prendre la réponse en compte.**

• **Exercice-8 :**

1. L'hétérochromatine est une zone d'intense activité transcriptionnelle.-----
2. Un télomère est une succession d'adénosine ajoutés par une télomérase.-----
3. Seuls les gènes d'origine maternelles sont exprimés sur le chromosome X.-----
4. Il existe des molécules double brin dont un brin est composé d'ADN et l'autre brin composé d'ARN.-----
5. L'anticodon méthionine est 5'-CAU-3' .-----
6. L'actinomycine D est un inhibiteur de la transcription.-----
7. Le codon d'initiation de la transcription est 5'-AUG-3'.-----
8. Le code génétique est dit "dégénéré" car un même codon spécifie plusieurs acides aminés.-----
9. Il existe 3 ARNt différents permettant de reconnaître 3 codons stop différents.-----
10. Les ribozymes sont des protéases spécialisées dans la dégradation du ribosome-----
11. Les fluoroquinolones sont des inhibiteurs couramment utilisés en antibiothérapie.-
12. Lors d'une PCR quantitative, plus le Ct augmente plus il y avait de séquence cible au début de la réaction. -----
13. La technique CGH permet de détecter des SNP.-----
14. Le clonage de la séquence codante d'un gène nécessite de disposer de l'ADN génomique de n'importe quelle cellule d'un individu.-----
15. Une pathologie génétique liée à l'X dominante se transmet de père en fils.-----