

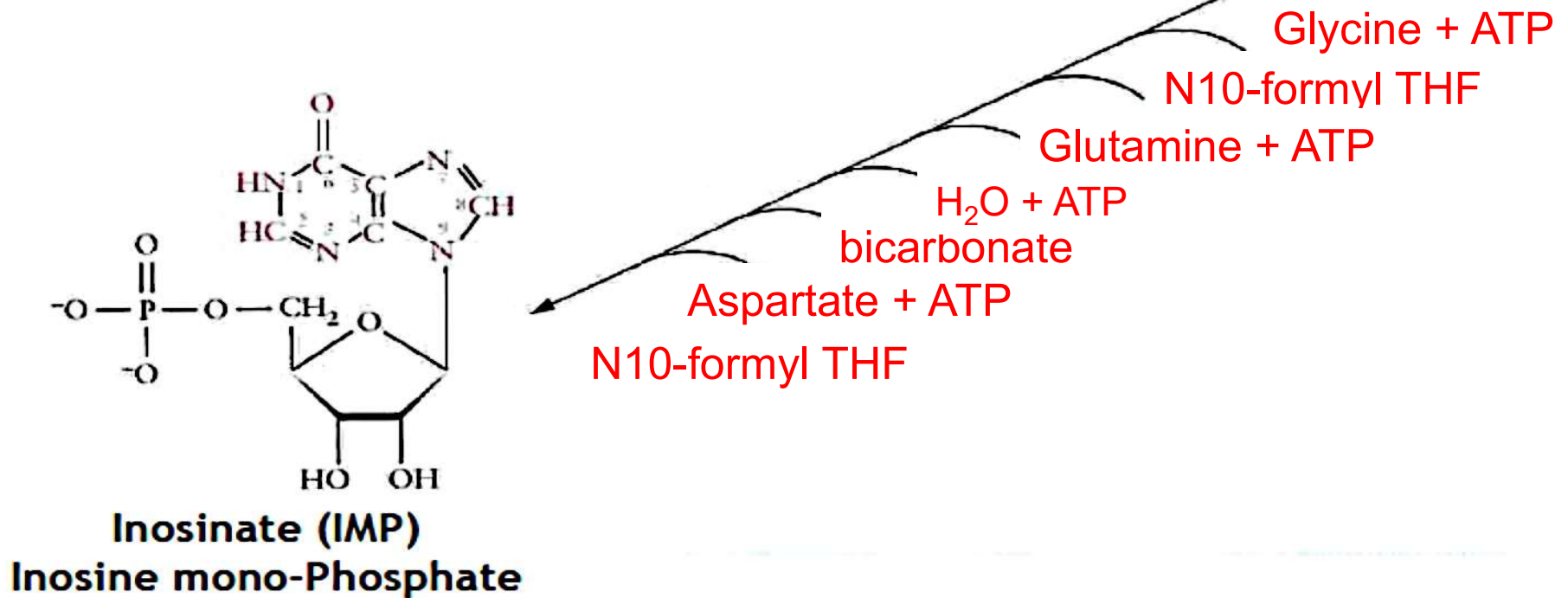
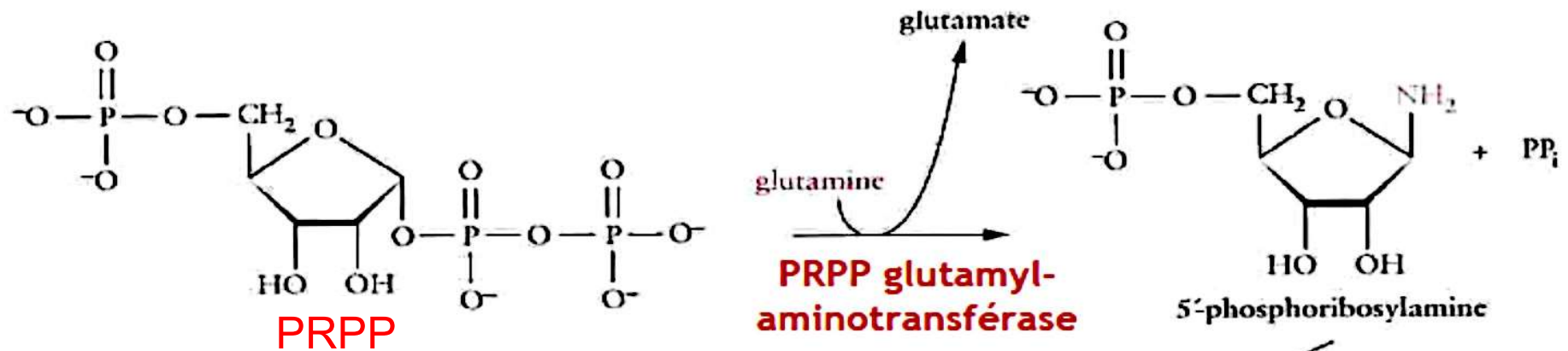
Amphi-ED N°2 de Biologie Moléculaire



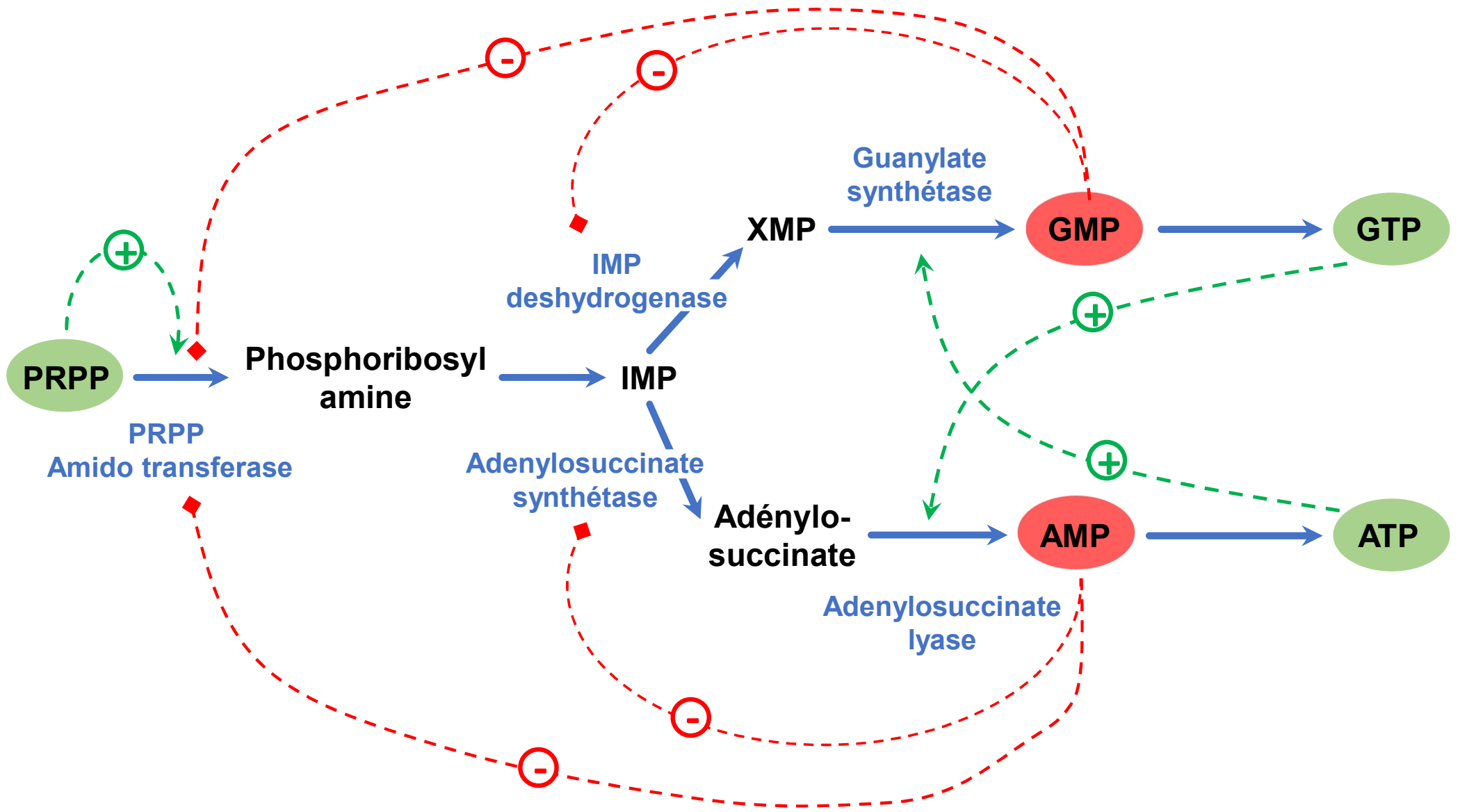
Dans le premier cours sur le métabolisme des acides nucléiques, lors de la régulation de la néosynthèse des purines (diapo 37), les voies peuvent s'autoréguler en inhibant leur propre voie en agissant sur la PRPP amido transférase et également sur la voie opposée sur des enzymes plus en aval, mais peuvent-elles agir davantage en amont donc par exemple sur la PRPP glutamyl-aminotransférase pour réguler la voie opposée ou même leur propre voie ?

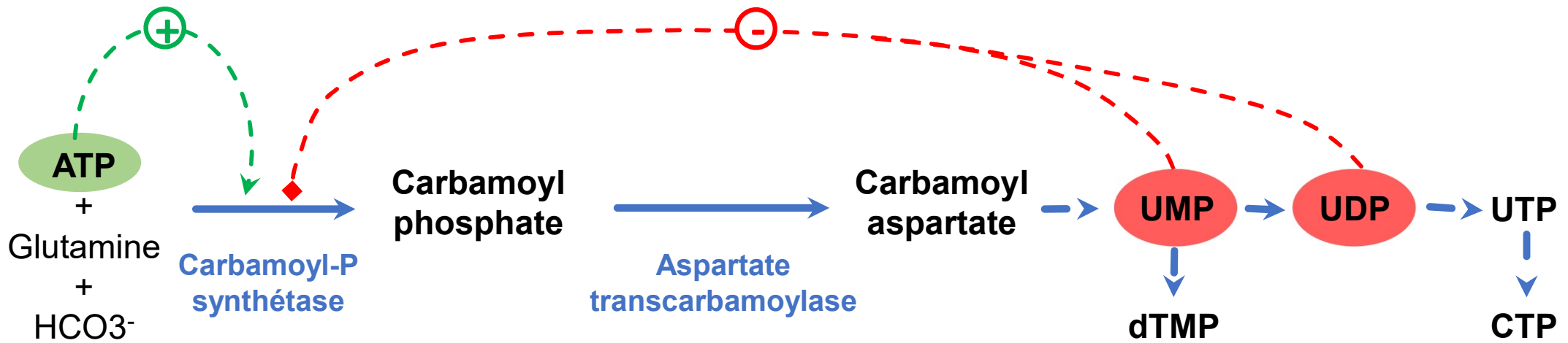
Dans le deuxième cours sur les propriétés physico-chimiques :

- L'ADN polymérase et une polymérase ADN dépendante, cependant pour l'amorce on accepte qu'elle soit ARN ? Cela n'a-t-il pas d'impact ou est ce qu'elle va subir un changement ? (Diapo 19)
- Pouvez-vous réexpliquer l'obtention des bases a-puriniques, pourquoi ne concernent-elles que les bases puriques ? (Diapo 35)
- Lorsque les enzymes de restriction génèrent des extrémités cohésives, comment différencie-t-on les 5' rentrantes/sortantes ? (Diapo 46)
- Je n'ai pas bien compris les différentes techniques : de séparation des acides nucléiques grâce à l'établissement de cartes de restriction (diapo 48), celle de l'ILLUMINA SOLEXA (diapo 66) ainsi que la CHIP (Chromatin Immuno Precipitation, diapo 72)



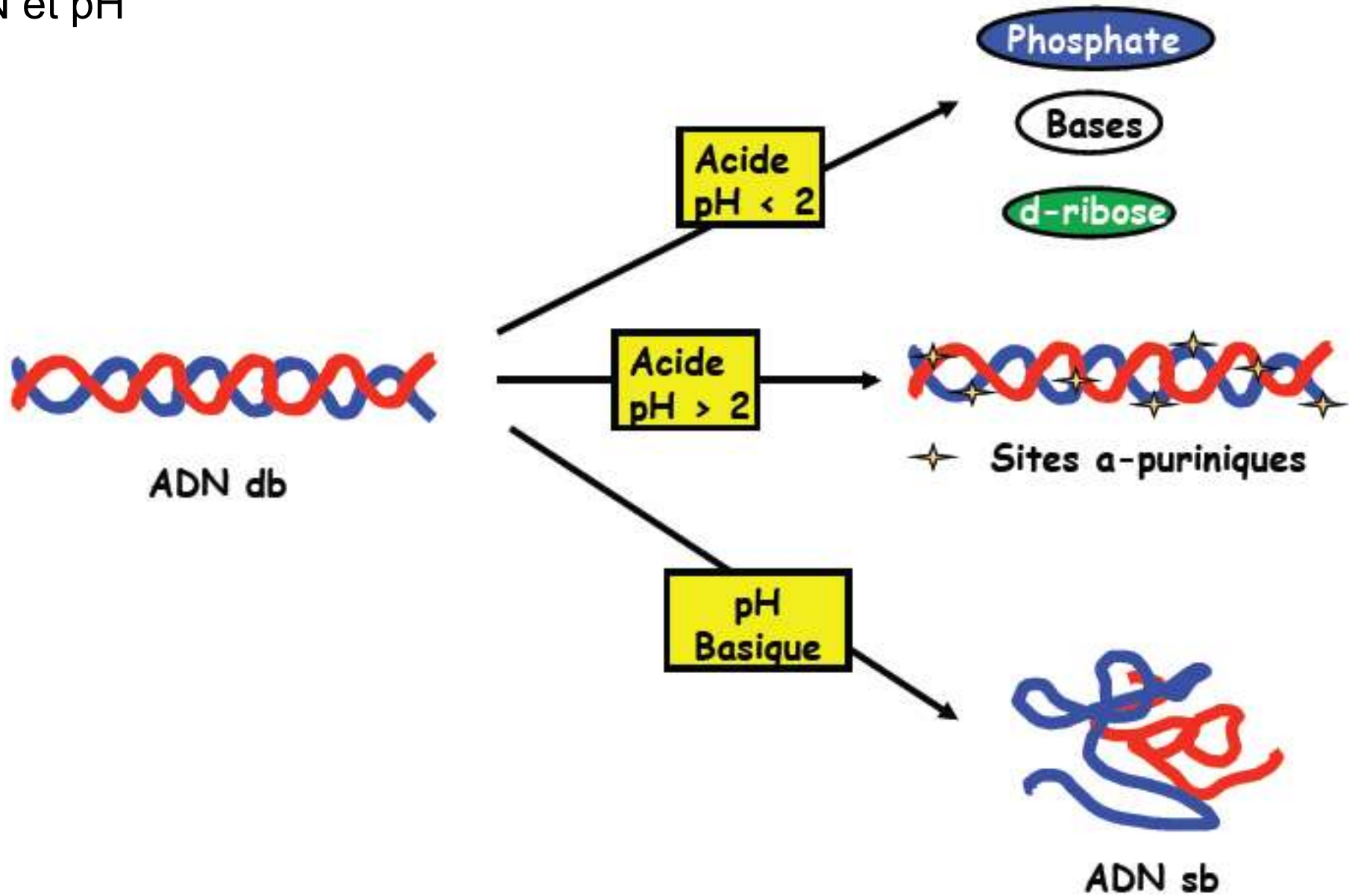
THF= Tetra-Hydro-Folate





Les Acides Nucléiques - Propriétés physico-chimiques

ADN et pH



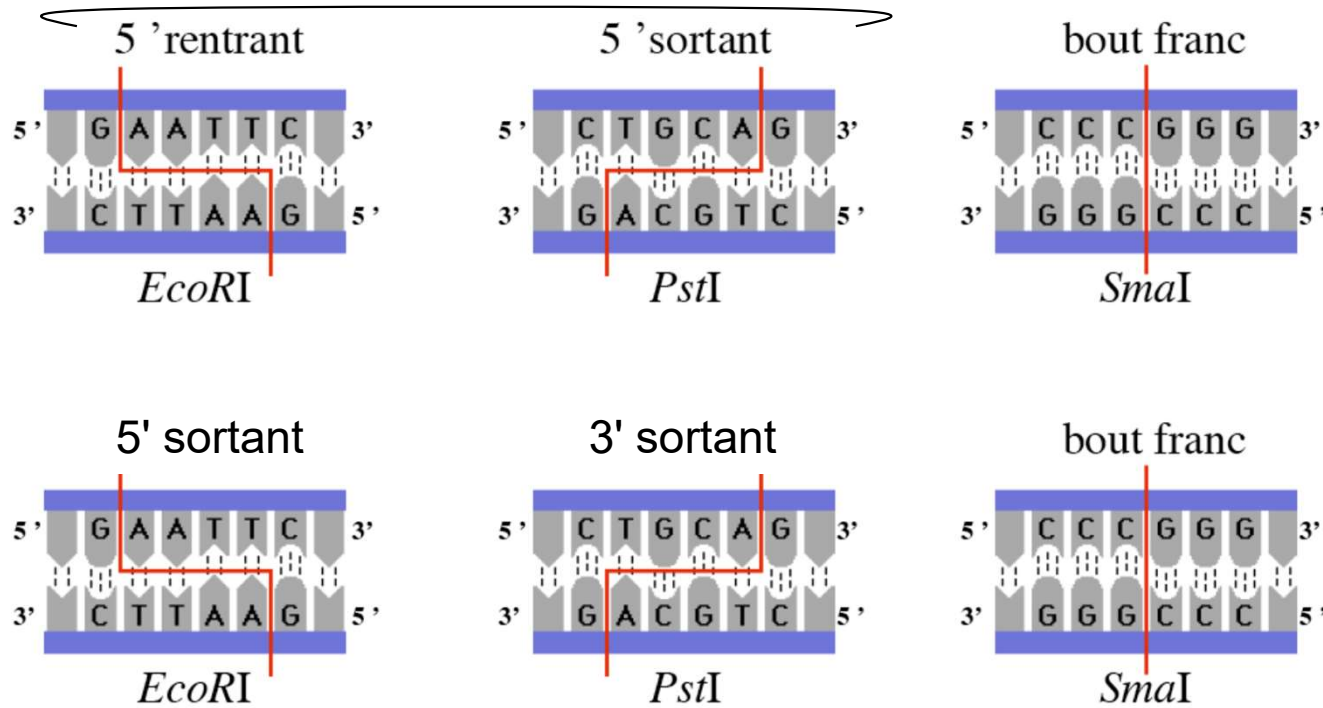
Les Acides Nucléiques - modifications enzymatiques



Les enzymes de restriction génèrent deux types d'extrémités:

- cohésives
- franches

Extrémités cohésives (sticky ends)



Les Acides Nucléiques - séparation

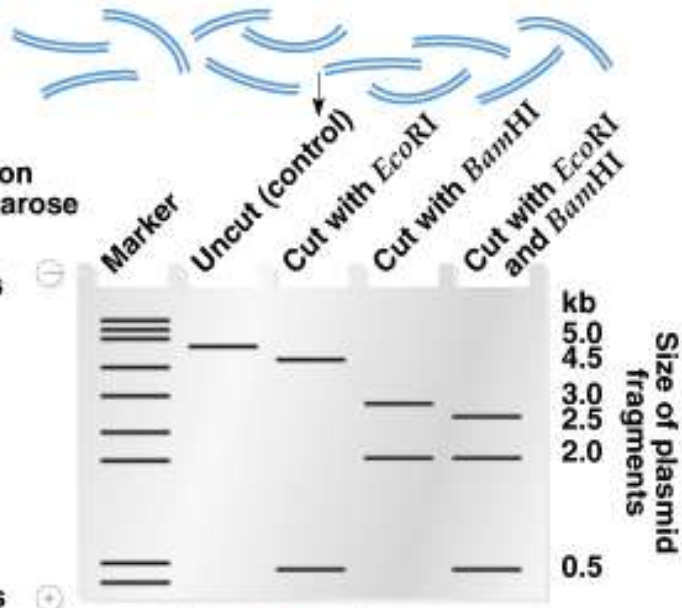
Etablissement de cartes de restriction

1 Many copies of a cloned 5.0 kb linear DNA fragment

2 Analyze DNA by restriction enzyme cleavage and agarose gel electrophoresis.

3 Construct calibration curve for markers.

4 Read kb for each fragment from calibration curve given distance migrat



Longer DNAs

Migration

Shorter DNAs

Log (kb)

Distance migrated



Uncut	<i>EcoRI</i>	<i>BamHI</i>	<i>EcoRI</i> + <i>BamHI</i>
5.0 kb	4.5 kb 0.5 kb	3.0 kb 2.0 kb	2.5 kb 2.0 kb 0.5 kb

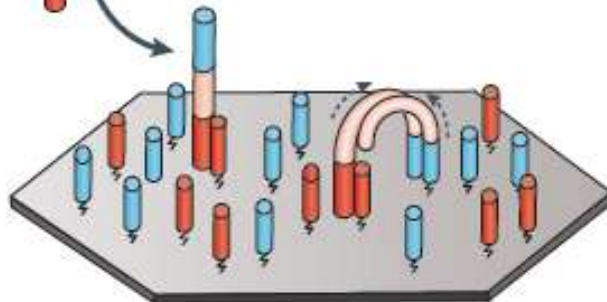


Séquençage – ILLUMINA/SOLEXA

b Solid-phase bridge amplification (Illumina)

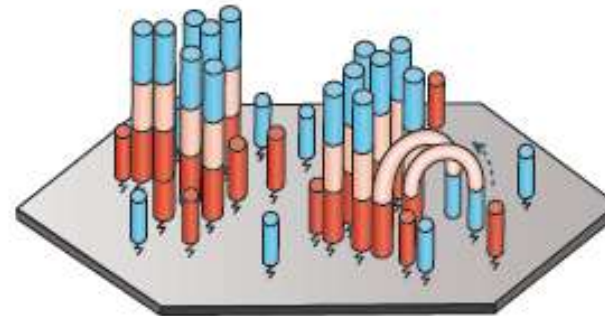
Template binding

Free templates hybridize with slide-bound adapters



Bridge amplification

Distal ends of hybridized templates interact with nearby primers where amplification can take place



Cluster generation

After several rounds of amplification, 100–200 million clonal clusters are formed

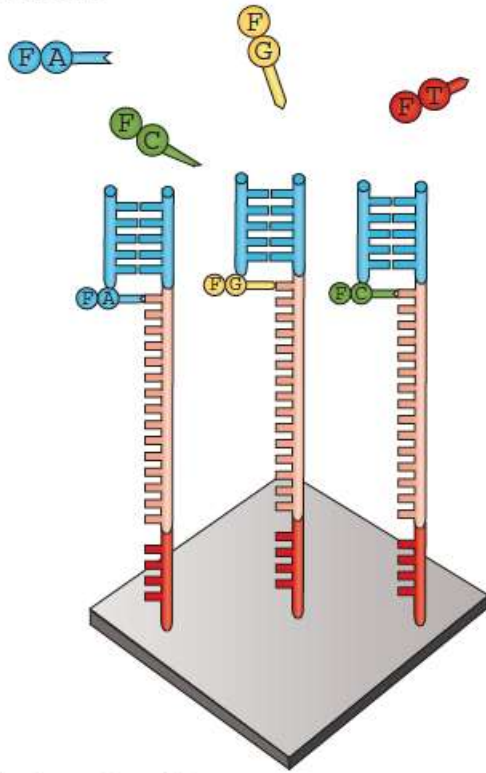
Patterned flow cell

Microwells on flow cell direct cluster generation, increasing cluster density



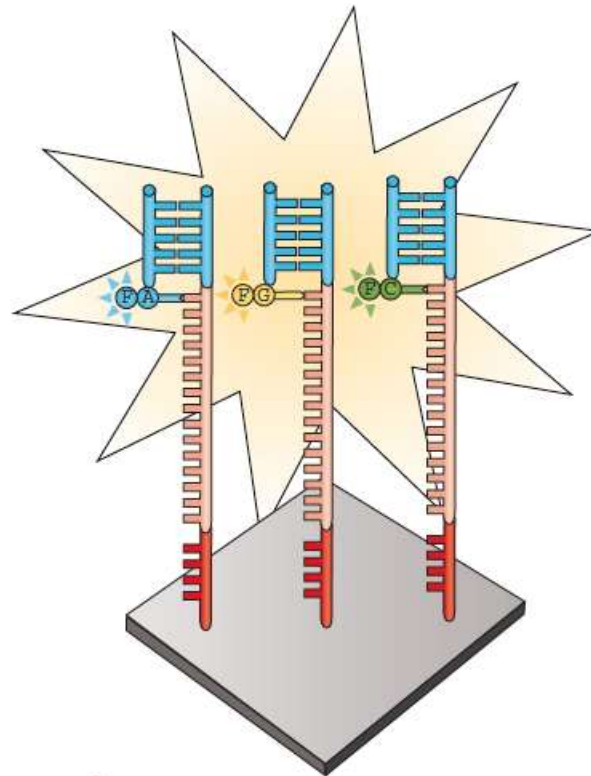
Séquençage - Applications

a Illumina



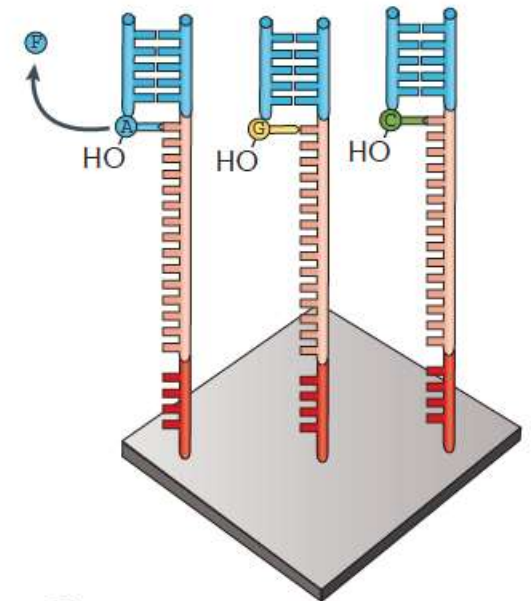
Nucleotide addition

Fluorophore-labelled, terminally blocked nucleotides hybridize to complementary base. Each cluster on a slide can incorporate a different base.



Imaging

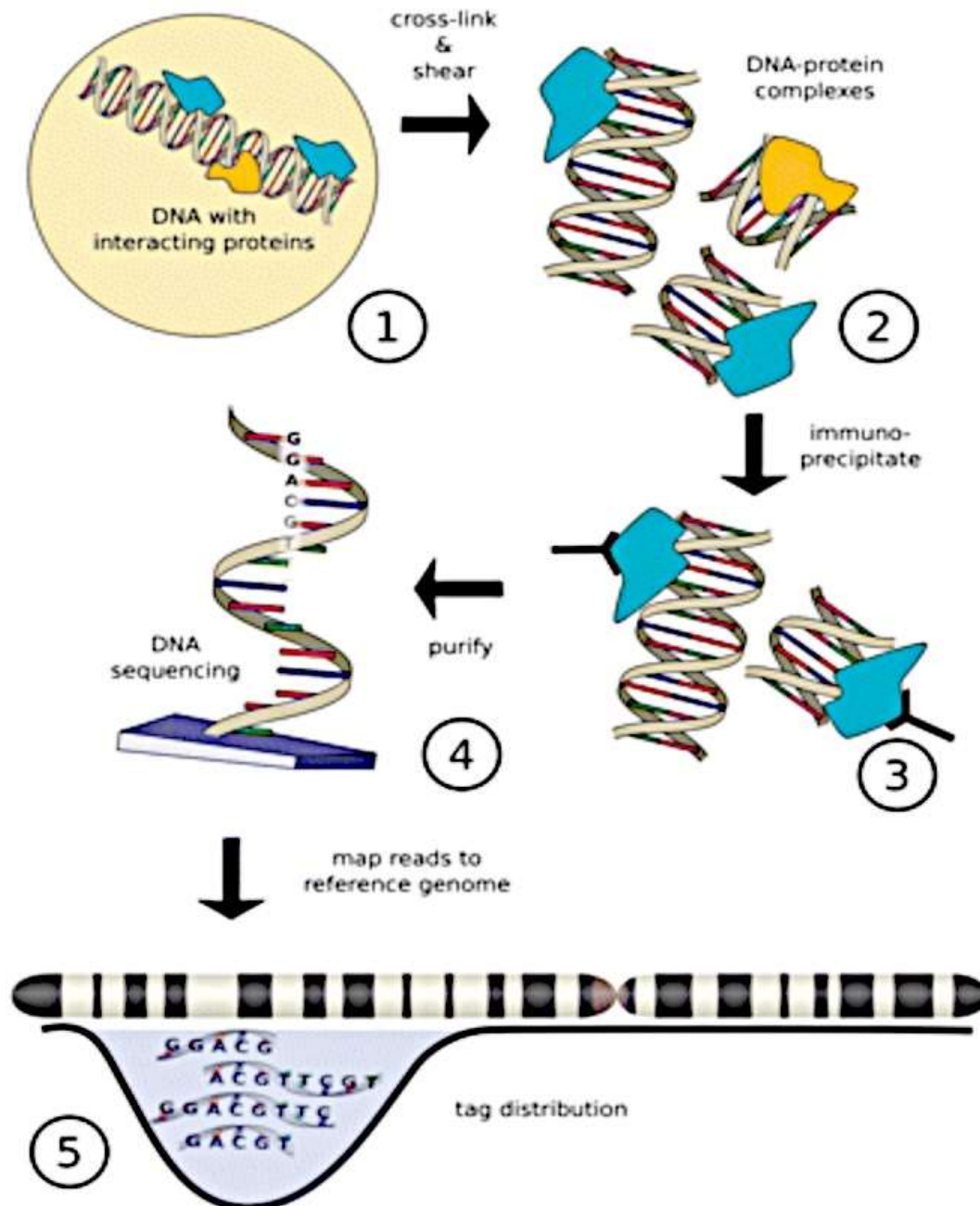
Slides are imaged with either two or four laser channels. Each cluster emits a colour corresponding to the base incorporated during this cycle.

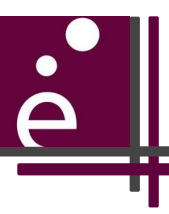


Cleavage

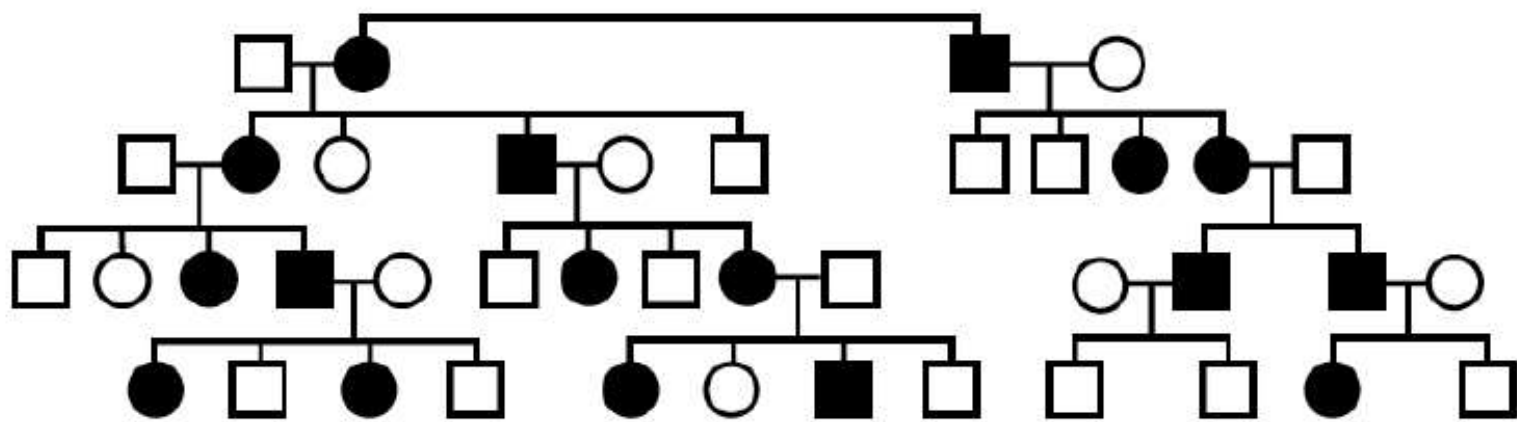
Fluorophores are cleaved and washed from flow cells and the 3'-OH group is regenerated. A new cycle begins with the addition of new nucleotides.

CHIP (Chromatin Immuno-Precipitation)





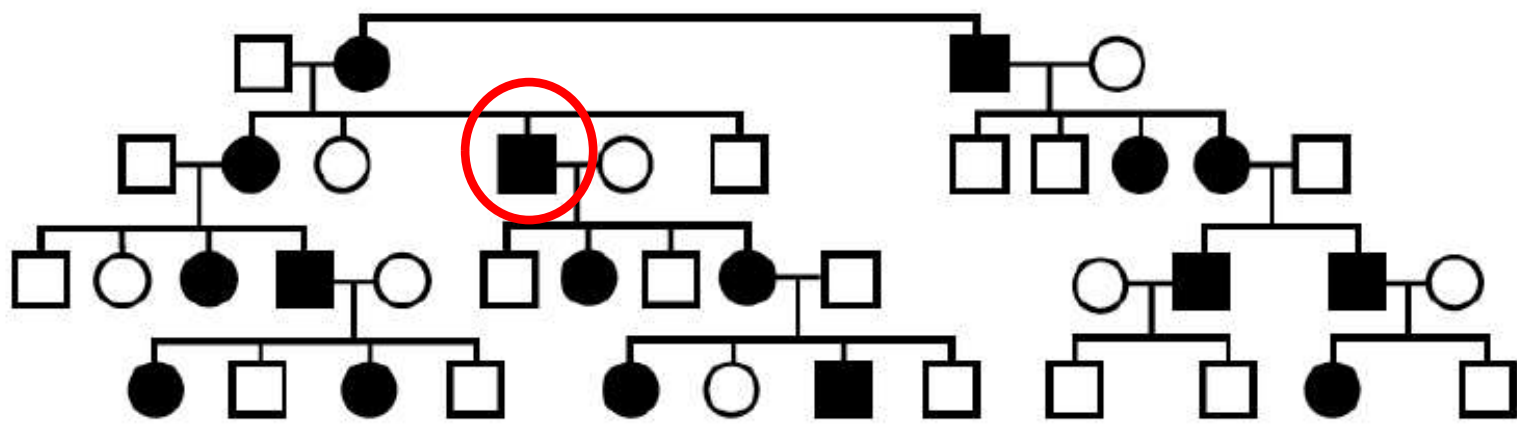
Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



Question-1 (1 point) : Selon ce qui est énoncé, identifiez l'individu qui se présente en consultation, en suivant les conventions d'écriture.



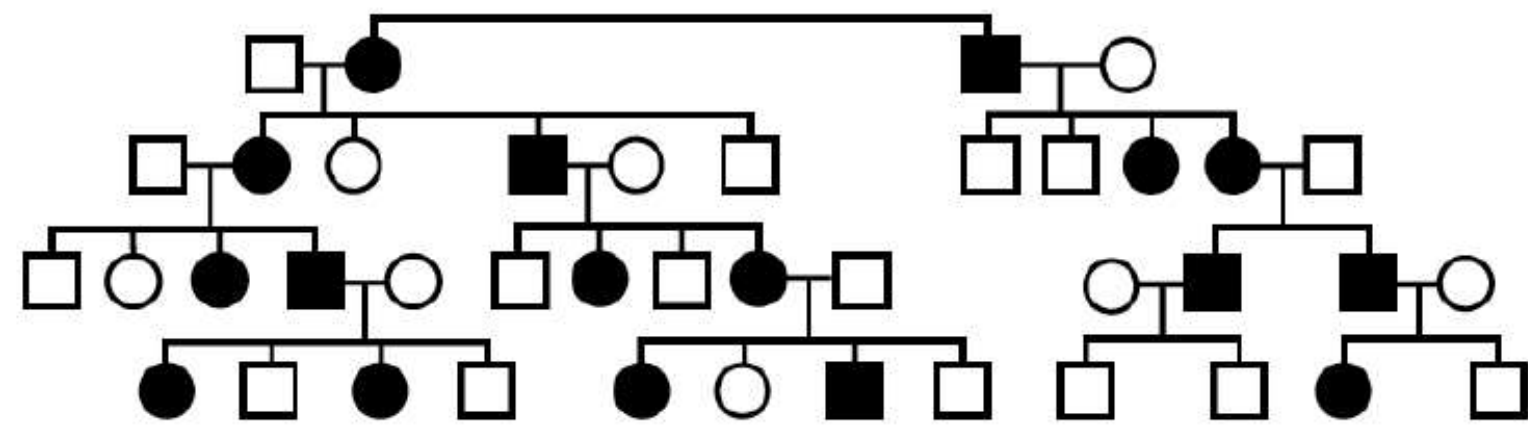
Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



Question-1 (1 point) : Selon ce qui est énoncé, identifiez l'individu qui se présente en consultation, en suivant les conventions d'écriture.



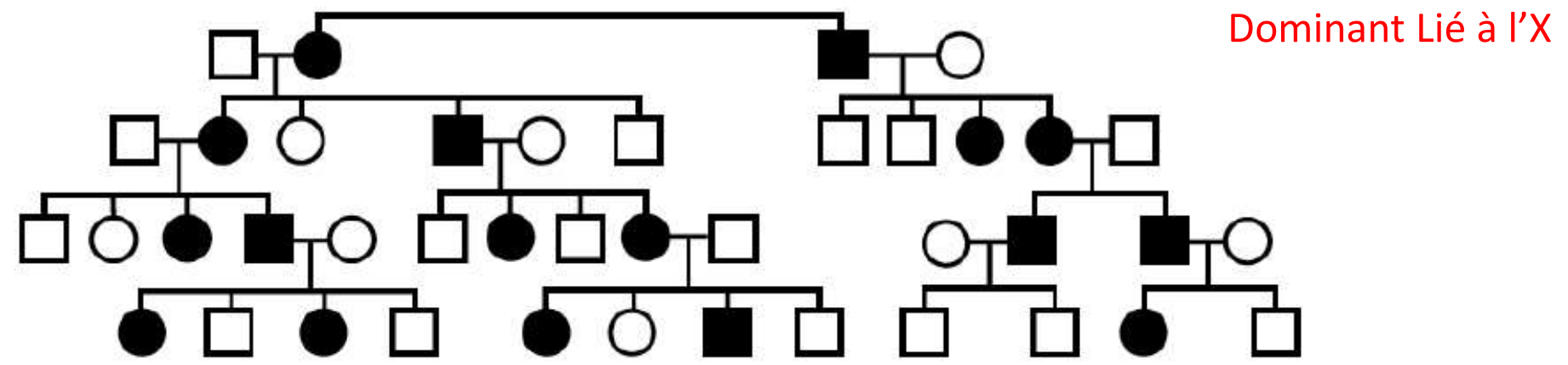
Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



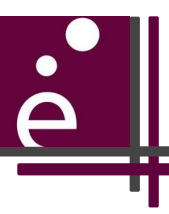
Question-2 (3 points) : Selon ce qui est énoncé et en analysant avec attention l'arbre généalogique établi indiquez le mode de transmission de la pathologie en question.



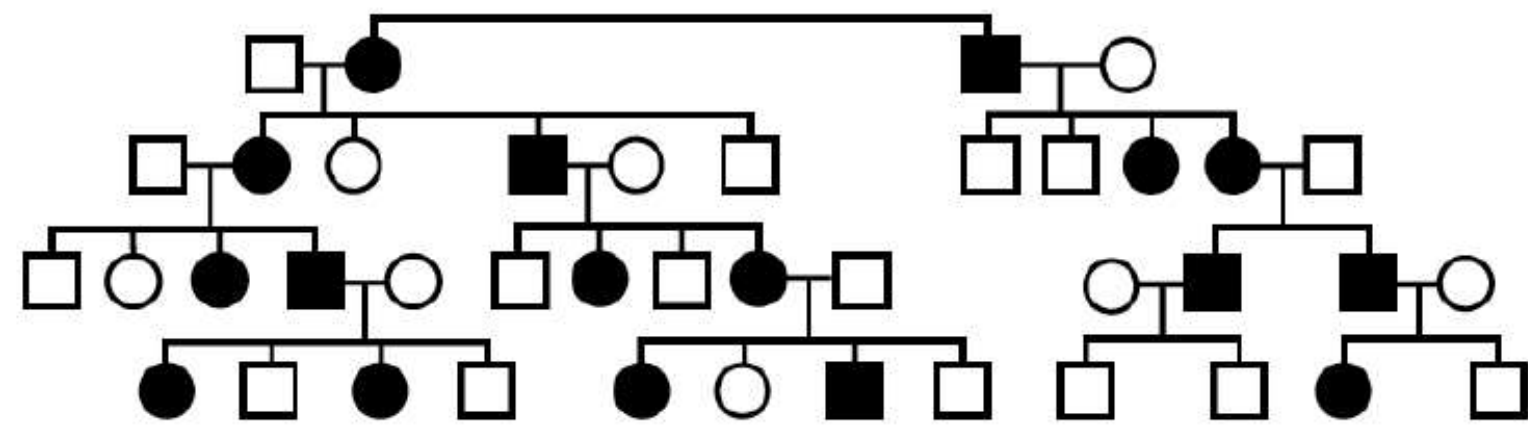
Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



Question-2 (3 points) : Selon ce qui est énoncé et en analysant avec attention l'arbre généalogique établi indiquez le mode de transmission de la pathologie en question.



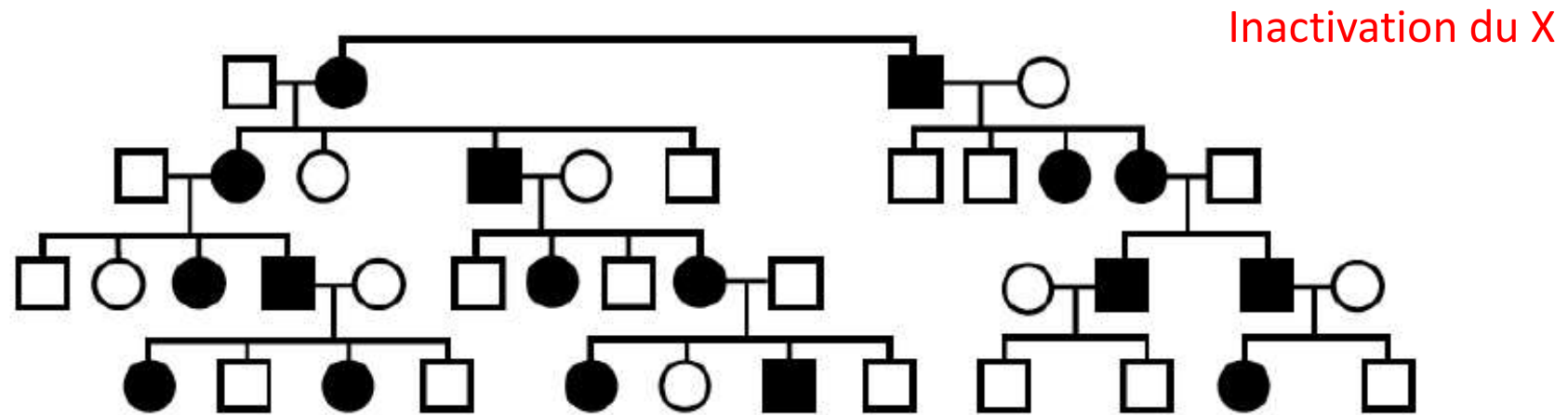
Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



Question-3 (2 points) : D'après vos conclusions, comment expliquez-vous que la sœur et les filles de ce patient présentent une forme atténuée de la pathologie ?



Un homme se présente à une consultation de génétique pour un conseil. Il est atteint d'une pathologie invalidante, sa femme ne souffre pas de cette pathologie. Parmi les 4 enfants qu'ils ont eus, leurs deux filles sont également atteintes, à des degrés divers mais de manière atténuée par rapport à leur père. Seule une des filles a donné naissance à quatre enfants dont un garçon atteint comme son grand-père et une fille légèrement affectée. La sœur de cet homme est également atteinte, de manière atténuée et a donné naissance à quatre enfants dont une fille légèrement atteinte et un garçon atteint comme son oncle. Un arbre généalogique est établi comme suit.



Question-3 (2 points) : D'après vos conclusions, comment expliquez-vous que la sœur et les filles de ce patient présentent une forme atténuée de la pathologie ?



12. Un homme dont le groupe sanguin est du type O a pour compagne une femme dont le groupe est du type A. Le père de cette femme appartient au groupe O.
Quelle est la probabilité pour que leurs enfants soient du groupe O ?

A- 100 %

B- 75 %

✓ C- 50 %

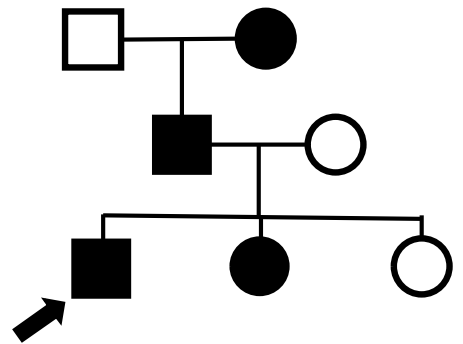
D- 25 %

E- 0 %

18. Un garçon est atteint de cataracte congénitale familiale se transmettant selon le mode dominant autosomique. La pénétrance est complète. Sa sœur, son père, sa grand-mère paternelle sont également atteints. Une autre sœur est indemne.

Quel est le risque pour la descendance de ce garçon d'être atteinte de cataracte ?

- A- 100 %
- B- 75 %
- C- 50 %
- D- 25 %
- E- 0 %

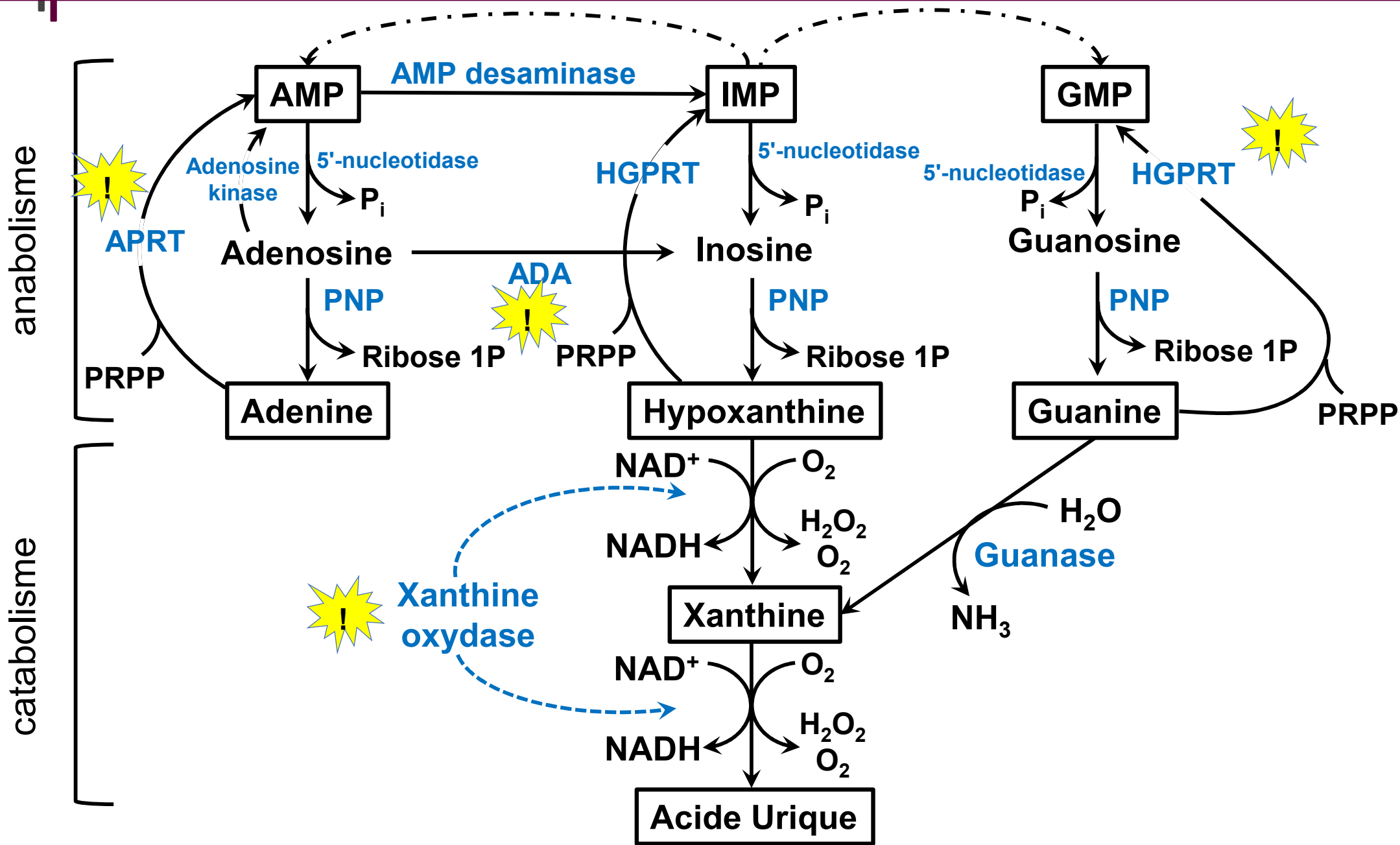


10- Une ADN polymérase III peut répliquer un génome de 1,23mm de longueur en 20 minutes. Si l'on considère que l'ADN est sous forme B, la vitesse de synthèse de cette polymérase est **de l'ordre de** :

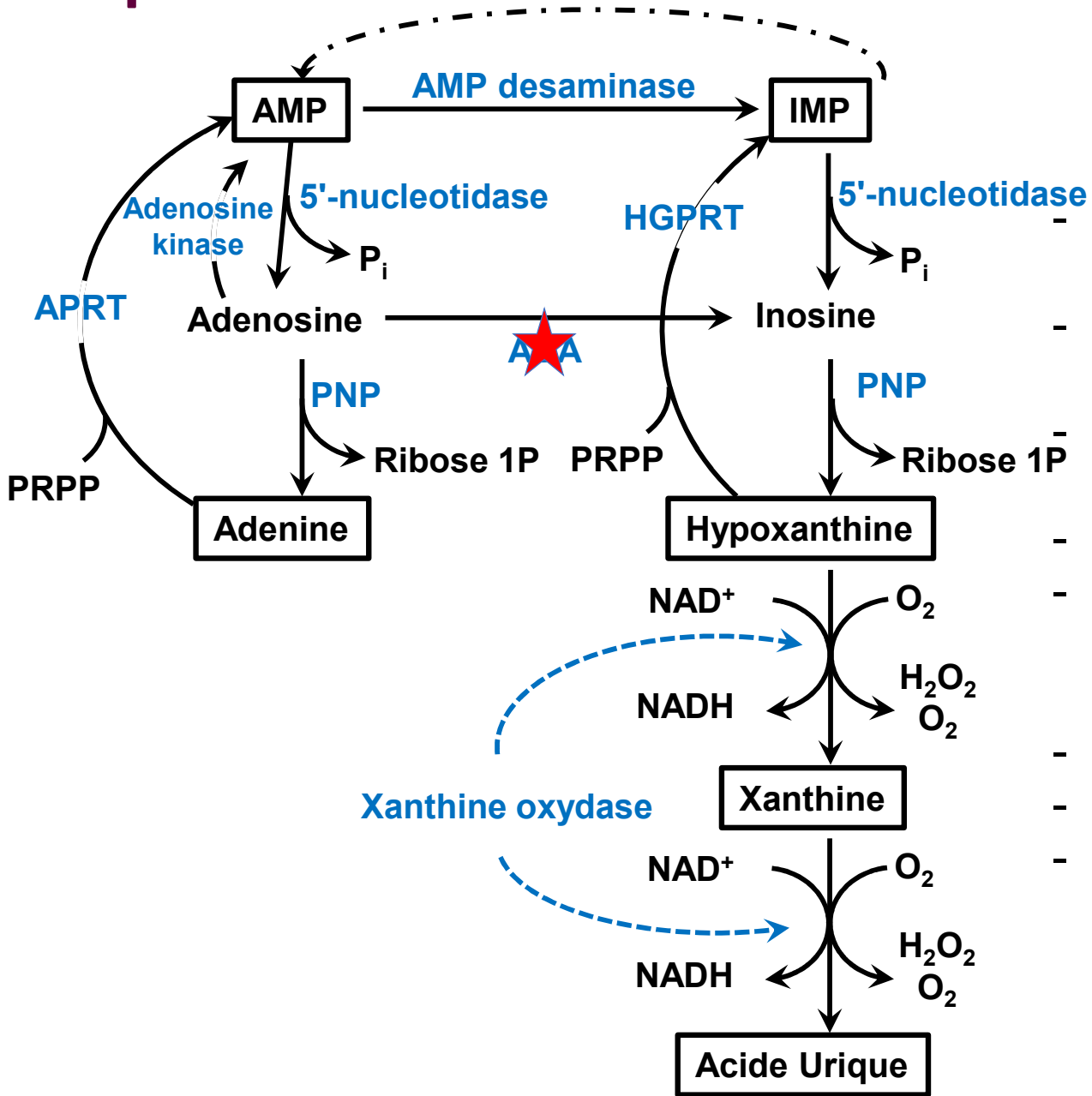
- ✓ A- 3000 nucléotides/s
- B- 3000 nucléotides/min
- C- 300 nucléotides/s
- D- 300 nucléotides/min
- E- 30000 nucléotides/s

6- Déficience en Adénosine Déaminase (ADA)

- A- Il s'agit d'une maladie à transmission récessive liée à l'X.
- B- Conduit à l'accumulation d'Inosine.
- C- Est responsable de néphropathies.
- ✓ D- Conduit à l'accumulation d'adénosine.
- E- Est traitée par administration d'Allopurinol.

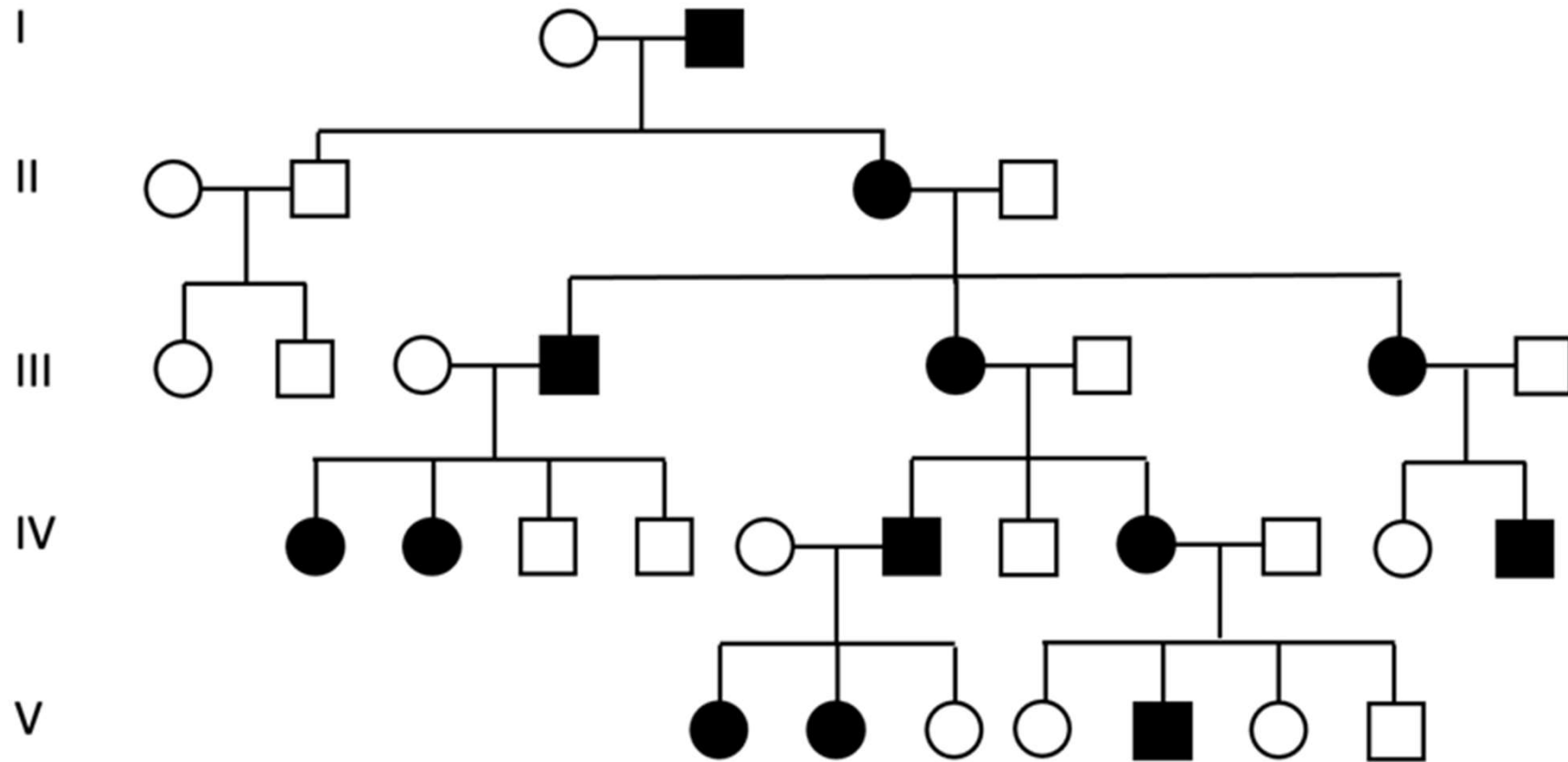


Déficiencia en ADA



- Accumulation d'adénosine et désoxyadénosine
- Dans les lymphocytes : dATP inhibe Ribonucléotide réductase
- Prévalence de 1/100000 à 1/500000 naissances
- Maladie autosomale récessive
- Représente 50% des SCID non liés à l'X
- Transplantation de moelle osseuse
- Injection PEG-ADA
- Thérapie génique

Analysez le pédigrée suivant et proposez, **en le justifiant**, un mécanisme de transmission héréditaire.



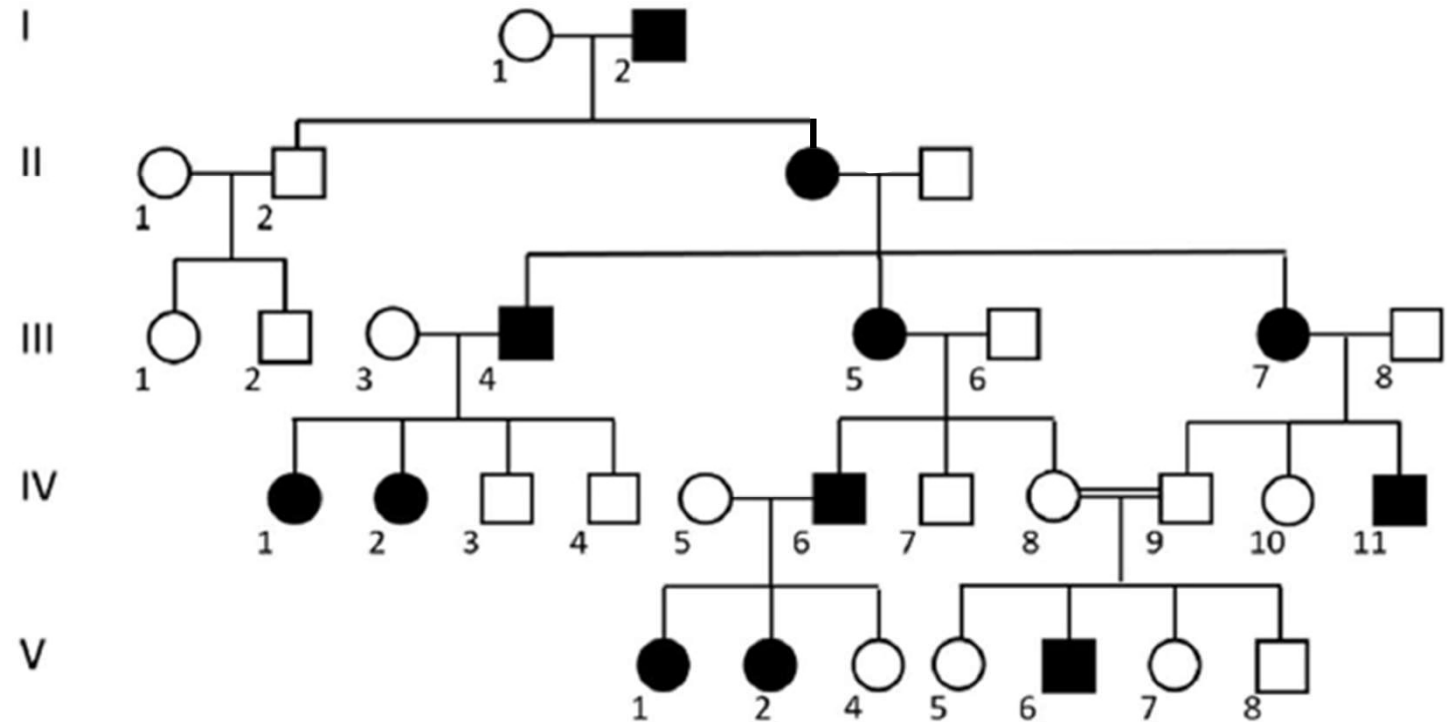
Tout individu atteint a au moins un parent atteint, pas de saut de génération :

Dominant

Si liaison à l'X alors toutes les filles d'un homme atteint seraient atteintes, ce n'est pas le cas donc, autosomal

Conclusion autosomal dominant

19. Selon le pédigrée suivant, le phénotype étudié suit un mode de transmission...

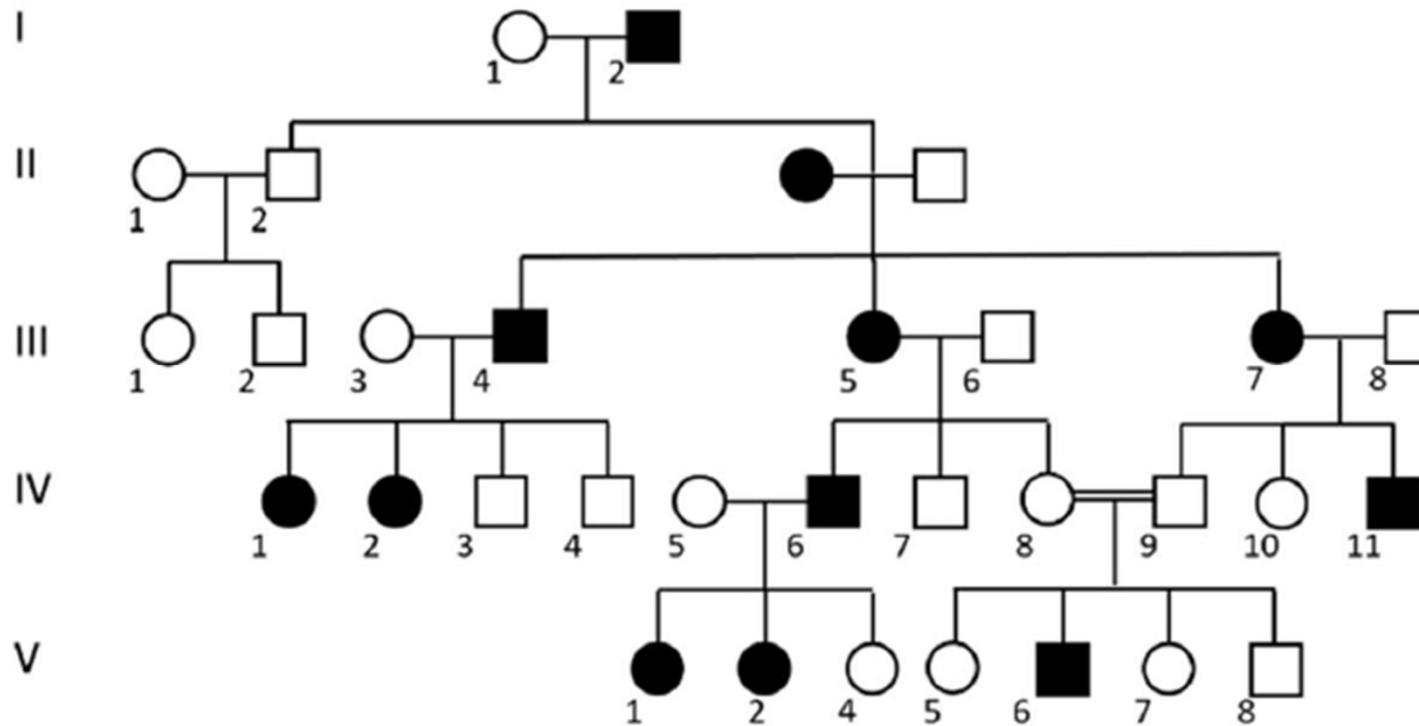


- ✓ A- Autosomal Récessif
- B- Autosomal Dominant
- C- Lié à l'X Récessif
- D- Lié à l'X Dominant
- E- Mitochondrial

Des individus atteints ont des parents non atteints, il y a un saut de générations : Récessif.

Si liaison à l'X récessif alors une femme atteinte a nécessairement son père atteint. Ce n'est pas le cas pour II-4, donc autosomal

Conclusion autosomal récessif.



20. Selon le pédigrée présenté en question 19 la probabilité pour le couple composé des individus IV-8 et IV-9 d'avoir un enfant atteint (comme V-6) est de :

- A- 0%
- ✓ B- 25%
- C- 50%
- D- 75%
- E- 100%

Les individus IV-8 et IV-9 ont une probabilité de 100% d'être hétérozygotes (car un de leur parents est homozygote malade). Il s'agit donc du croisement de deux individus hétérozygotes. Or le risque d'avoir un individu homozygote malade dans ce type de croisement est de 25%

Révisions QCM/QCS

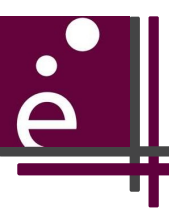




Parmi les propositions suivantes concernant l'expression d'un gène codant une protéine, laquelle est exacte?

- a) La séquence poly A des ARNm est synthétisée par une poly A polymérase
- b) Le signal de polyadénylation (AATAAA) est une séquence non transcrite
- c) L'intégrité du dinucléotide GT au début de l'intron n'est pas indispensable à l'épissage de l'ARN prémessager
- d) La TATA box est une séquence transcrite
- e) La transcription débute au codon d'initiation de la traduction

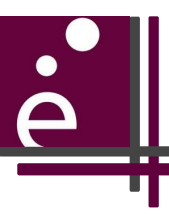
	Vrai	Faux
a)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
c)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
d)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
e)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Les ARN ribosomiaux (ARNr) :

- a- servent à la traduction
- b- sont transcrits, en partie, dans le nucléole
- c- sont traduits en protéines ribosomiales
- d- portent les acides aminés pour l'étape de traduction

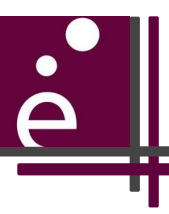
	Vrai	Faux
a-	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b-	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c-	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
d-	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Le (ou les) mécanisme(s) de régulation post-transcriptionnel(s) chez les eucaryotes est (sont)

- a) Méthylation des cytosines
- b) Promoteurs alternatifs
- c) Epissage alternatif
- d) Stockage des ARNm
- e) Acétylation des histones

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



I- La levure est un outil génétique intéressant car :

- a- C'est un organisme procaryote possédant un noyau.....
- b- C'est un organisme eucaryote dépourvu de noyau.....
- c- C'est un eucaryote unicellulaire.....
- d- Son génome est circulaire.....

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



IV- Le 5 fluoro-uracile et le méthotrexate sont :

- a- des antimétabolites.....
- b- des inhibiteurs de la réplication.....
- c- des inhibiteurs de la synthèse protéique.....
- d- des inhibiteurs de la transcription.....
- e- des inhibiteurs de la synthèse du dTMP.....

	Vrai	Faux
a- des antimétabolites.....	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b- des inhibiteurs de la réplication.....	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c- des inhibiteurs de la synthèse protéique.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
d- des inhibiteurs de la transcription.....	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
e- des inhibiteurs de la synthèse du dTMP.....	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



Quelle est la base qui n'existe pas dans une molécule d'ADN ?

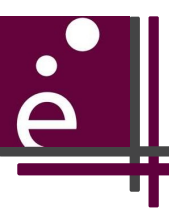
- A - Adénine
- B - Cytosine
- C - Uracile
- D - Thymine
- E - Guanine

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Parmi les propositions suivantes concernant la double hélice d'ADN, indiquer celle(s) qui est (sont) exacte(s) :

- | | Vrai | Faux |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| A - Un nucléoside est formé d'une base azotée et d'un désoxyribose | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| B - L'adénine et la guanine sont des bases puriques | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| C - L'adénine et la guanine sont appariées grâce à des liaisons hydrogène | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> |
| D - Ses deux chaînes sont complémentaires | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| E - Le nombre de bases puriques est identique au nombre de bases pyrimidiques | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |



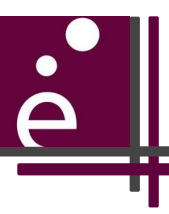
L'action anticancéreuse d'un "antibiotique" (par exemple METHOTREXATE®) est réalisée par inhibition d'une des enzymes suivantes.

Laquelle?

- a) Sérine hydroxyméthylase
- b) Dihydrofolate réductase
- c) Thymidilate synthétase
- d) Glycine synthétase
- e) Méthylène tétrahydrofolate réductase

Vrai Faux

<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ? Les molécules d'ARN...

A) Sont susceptibles d'être réparées

B) Sont majoritairement des ARN messagers dans une cellule.

C) Présentent des régions simple brin dans le cas de l'ARN de transfert.

D) N'absorbent pas à 260nm.

E) Portent toutes une queues poly-A en 3' chez les eucaryotes.

Vrai Faux

<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



La rifampicine...

- A) Est une substance naturelle.
- B) Inhibe la traduction procaryote.
- C) Inhibe la transcription procaryote.
- D) Inhibe la réplication eucaryote.
- E) Est un antimétabolite analogue de la thymidine.

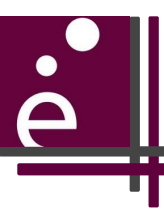
Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ? Code génétique et traduction... :

- A) Le code génétique permet de déduire une séquence unique d'ADN à partir d'une séquence protéique.
- B) Le code génétique est organisé en triplets et est non chevauchant.
- C) Aux 3 codons stop correspondent 3 ARN de transfert stop.
- D) Hormis le codon AUG, un codon peut spécifier plusieurs acides aminés.
- E) Une mutation sur un codon stop produit obligatoirement une protéine raccourcie.

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



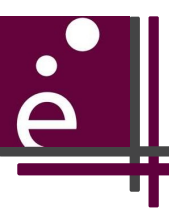
Indiquer la réponse exacte

- A) Il existe chez l'Homme 81 codons possibles (3^4 combinaisons)
- B) Le codon AUG définit l'extrémité 5' du premier exon d'un transcrit eucaryote
- C) On considère qu'il existe autant d' amino acyl ARNt synthétase que d'Acides aminés différents
- D) Il existe 81 ARNt différents
- E) Le Wobble porte essentiellement sur le nucléotide en position 3' de l'anticodon

Vrai

Faux

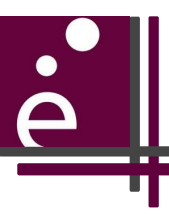
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



L'expérience de Griffith de 1928 a permis de mettre en évidence le phénomène de :

- A) transfection
- B) electroporation
- C) conjugaison
- D) transformation
- E) transposition

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Un mélange réactionnel de PCR de volume final 100 μ l contient 1 μ l d'amorces ADN à la concentration initiale de 100 μ M. Quelle est la concentration d'amorces dans le mélange réactionnel ?

- A) 1x10⁻⁹ M
- B) 1x10⁻⁶ μ M
- C) 1x10⁻⁶ M
- D) 1x10⁻⁵ μ M
- E) 1x10⁻¹⁵M

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Dans une double hélice d'ADN

- A) Une base purique est toujours hybridée à une base pyrimidique.
- B) Les bases d'un même brin sont reliées par des liaisons peptidiques.
- C) Le ribose est relié au phosphate par une liaison phospho-diester.
- D) Le ribose est relié à la base par une liaison glycosidique.
- E) La première règle de Chargaff stipule que $\%A=\%G$ et $\%C=\%T$.

Vrai	Faux
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Un biologiste cherche à amplifier, par PCR, la séquence suivante :

5'-GACCTGTGGAAGCTAGCTGGAC.....TTAGCGTCATACGGGATTGA-3'

parmi les propositions suivantes lesquelles constituent un couple d'amorces utilisable pour cette amplification?

- A) Amorce 1 : 5'-GACCTGTCCAAGC-3' Amorce 2 : 5'-CATACGGGATTGA-3'
- B) Amorce 1 : 5'-GACCTGTCCAAGC-3' Amorce 2 : 5'-TCAATCCCGTATG-3'
- C) Amorce 1 : 5'-GCTTCCACAGGTC-3' Amorce 2 : 5'-GTATGCCCTAACT-3'
- D) Amorce 1 : 5'-GCTTCCACAGGTC-3' Amorce 2 : 5'-TCAATCCCGTATG-3'

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>



Les substrats de la Ribonucléotide Réductase sont...

- A) l'ADP, le GDP, le CDP et le TDP.
- B) l'ADP, le GDP, le CDP et l'UDP.
- C) l'ATP, le GTP, le CTP et l'UTP.
- D) l'ATP, le GTP, le CTP et le TTP.
- E) le dADP, le dGDP, le dCDP et le dUDP.

Vrai	Faux
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>