

1. Quel est l'avantage pour les organismes vivants d'avoir leur génome sous la forme d'ADN double brin plutôt que d'ARN double brin et ADN simple brin ?

- L'ARN est instable à cause de son OH en 2' qui peut casser la liaison P
- L'ADN simple brin ne permet pas de réparation par comparaison

2. Pourquoi le Di-nucléotide CG est-il sous représenté dans le génome par rapport au di-nucléotide GC ?

- Une désamination vient d'une perte de NH₂ (porté par le G et le C) et remplacé par un Oxygène, ce sont des points chaud de mutations. Si une méthylation suit une désamination, le C devient T.
- G est méthylé uniquement lorsqu'on a CG, G n'est pas méthylé lorsqu'elle suit une C.

3. Nous voulons identifier un gène humain par hybridation avec une sonde nucléotidique dont la séquence est donnée ci-dessous: 5'-CTGCAGATTGACGACTG-3'

- Quelle est la séquence du brin cible complémentaire ?

- 5'CAGT....3'

- Le génome humain contient également les séquences suivantes. Quelles sont les deux séquences qui pourront s'hybrider aspécifiquement avec la sonde ?

- La sonde n°3 et n°4

- Malgré une température bien choisie l'une des deux séquences aspécifique s'hybride quand même à la sonde. Sur quel autre paramètre peut-on jouer pour augmenter la spécificité d'hybridation ? Dans quel sens doit-il varier ? Pourquoi ?

- Il faut diminuer la force ionique pour séparer les 2 brins. Une force ionique stabilise les deux brins.

4. Nommer les différents facteurs protéiques et activité enzymatique impliqués dans la réplication de l'ADN lors de l'initiation des deux brins au niveau de l'origine de la fourche de réplication chez les procaryotes. Décrire leur rôle sur chaque brin

- ADN polymérase capable de créer une séquence complémentaire au brin matriciel.
- Primase: synthétise une amorce d'ARN
- ADN PolIII: synthèse de 5' en 3'
- RNase H: dégrade l'amorce d'ARN
- ADN Pol I
- Ligase
- Topoisomérase

5. Pourquoi les extrémités des chromosomes ne peuvent-elles pas être répliquées par la machinerie de la réplication ? Décrire l'activité enzymatique cellulaire qui permet de pallier ce problème.

Le brin tardif nécessite une amorce en 5', or il ne peut pas en trouver aux extrémités, les brins tardifs auront donc un manque de réplication au niveau des télomères.

La télomérase est une reverse transcriptase, synthétisant de l'ADN à partir d'une matrice d'ARN qui porte la séquence télomérique TTAGGG. Elle crée ainsi une amorce pour la Pol I.

6. Quels sont les mécanismes qui aboutissent à un taux d'erreur quasi-nul lors de la réplication

- Activité exonucléasique de la Pol (proof-reading 3'-5'). Fait passer le taux d'erreur de 10^{-4} à 10^{-7} .
- La réparation post réplication: mis-match repair:
 - Méthylation du brin matriciel permettant la reconnaissance
 - MutS et MutL reconnaissent l'erreur
 - Endonucléase coupe le brin
 - Activité exonucléasique puis Pol I et Ligase.
 - Taux d'erreur tombant à 10^{-3}

7. Décrivez le test d'Ames et son intérêt

- Bactéries auxotrophe: déficiente d'un AA donné
- Le produit à tester opère des mutations et la bactérie est à nouveau fonctionnelle
- Activation par les p450 de sauvegarde les rendent soluble et donc nocives

8. Dimères de thymines:

- **Donnez la structure chimique de ce composé**
- **Dans quelle circonstance sa formation est-elle induite**
 - Exposition aux UV.

- **Comment cette lésion est-elle réparée**

- Réparé par une PhotoLigase
- NER
 - XPA, XPB (sensibilité aux UV pour les déficientes en cette enzyme)
 - Reconnaissance par XPA, XPC
 - Coupure par une endonucléase XPF, XPG
 - Exonucléase XPB, XPD

9. Desoxy-uridine:

- **Donnez la structure de ce nucléoside**
 - Structure de l'uracile
- **Dans quelle circonstance peut-on le retrouver dans l'ADN ?**
- **Décrivez le mécanisme de réparation qui permet son élimination**

- BER: excision de base
 - Glycosidase propre à l'uracile: Uracile Glycosidase rompant la liaison N-Glycosidique et création d'un site AP
 - Endonucléase coupant la liaison P diester du ribose
 - Pol I et Ligase comblent les trous (Rhooooo)

10. Décrire le mécanisme général de la recombinaison homologue ?

- Coupure simple brin
- Déroulement de l'extrémité 3'OH
- RecA déplace la partie exposée
- Déplacement du brin (par RecA)
- Le brin déplacé est clivé et s'apparie avec l'autre brin homologue (Jonction de Holliday)
- Cette structure branchée se déplace nécessitant de l'énergie (ATP)
- Résolution: 2 coupures + religations

11. Décrire le mécanisme de diversification des Igm

- Chaque lymphocyte prend 1 séquence parmi une bibliothèque de V,D,J au hasard pour fabriquer un Ig en prenant d'abord D et J.
- Il existe des RSS: repliement intragénique qui permettent la position des séquences.