

Licence Sciences de la vie

Parcours :
 Biologie Moléculaire et cellulaire
 Analyse de Données Expérimentales

2015-2016

1 heure

I. (15 points) Caractérisation d'un nouvel élément promoteur dans un gène mir-22
 TATA-less transcrit par l'ARN polymérase II.

La région promotrice assurant une transcription optimale du gène a été cartographiée entre les positions -487 et + 55 du gène.

1°) Quelle information apporte les signes + et -

Afin de caractériser les éléments de cette région promotrice, une série de délétions effectuées sur la région promotrices est testée en insérant la région promotrice en amont du gène de la F-luciférase (F : Firefly). Des cellules Hela en culture ont été co-transfectées avec ces différentes constructions et un plasmide codant pour la R-luciférase (R : Renilla) afin de normaliser les résultats. (Les luciférases Firefly et la Renilla émettent une luminescence à des longueurs d'onde différentes)

2°) Rappelez en quoi consiste la normalisation de résultats expérimentaux, utiliser l'exemple du test luciférase effectué ici.

Les activités luciférase obtenues sont données dans l'histogramme ci-dessous (Figure 1). Le clone -487 +55 correspond au gène sauvage et sert de référence. Interprétez ces résultats. Y a-t-il un élément régulateur dans la région testée, si oui à quelle position se situe-t-il?

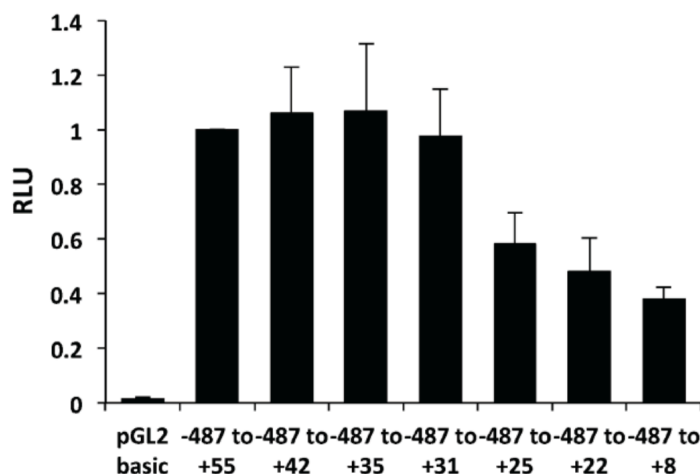
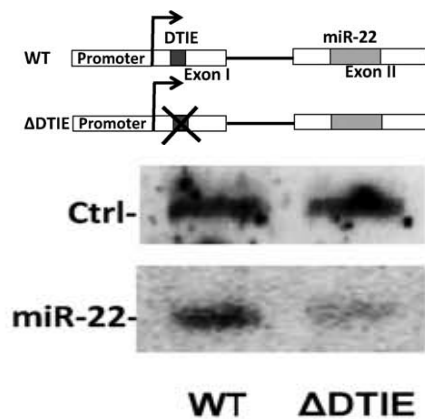


Figure 1. Effet de délétions de la région promotrice.

L'élément régulateur a été appelé DTIE, le rôle de ce motif a été testé dans le contexte du gène mir-22.



Constructions testées et transfectées dans des cellules en culture

Analyse par Northern blot du produit de la transcription des gènes muté et sauvage.

Figure 2. Rôle du DTIE *in vivo*.

3°) Analysez et commentez la Figure 2. Que pouvez-vous conclure quant au rôle du motif DTIE ?

Afin de délimiter les bornes de ce motif, des mutants ont été préparés (Figure 3A). L'effet des mutations a été étudié comme précédemment en utilisant un test luciférase. Les résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (Figure 3 B)

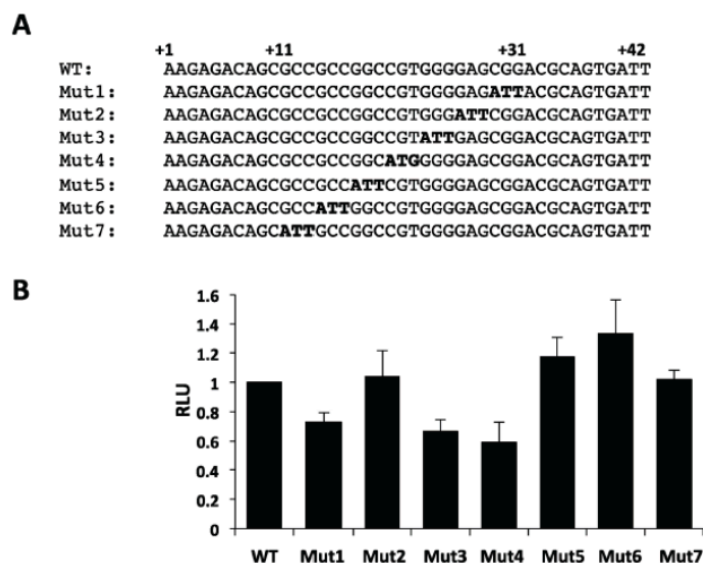


Figure 3. Effet de mutations sur l'activité promotrice du motif DTIE

4°) Donnez la séquence et la position exacte du motif DTIE.

Des tests d'activité Luciférase ont été effectués avec des mutants dans lesquels la distance entre le nucléotide +1 et le motif DTIE a été augmentée de 5 ou 10 nucléotides.

5°) Que pouvez vous conclure de la Figure 4 ?

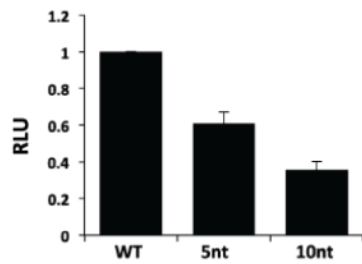


Figure 4. Effet de l'insertion de nucléotides sur la fonction de la séquence DTIE.

II. (5 points) Un modèle de régulation impliqué dans la différenciation cellulaire est illustré dans le schéma ci-dessous. Décrivez les mécanismes impliqués dans cette régulation.

