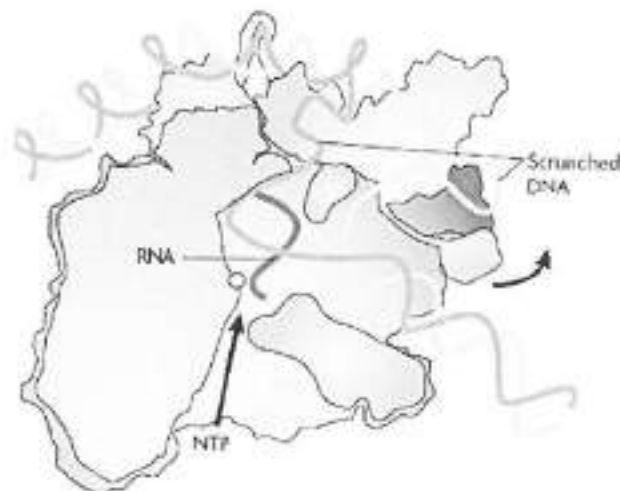


-L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

-L'usage d'une calculatrice est limité à des appareils non programmables ne comportant ni écran graphique et ni de caractères alphanumériques. Le prêt d'une calculatrice à un autre candidat est strictement interdit.

- les documents ne sont pas autorisés

I. Transcription eubactérienne



- Décrivez les différents évènements qui ont conduit à la formation du complexe ci-dessus.
- Décrivez le rôle de chacune des molécules représentées dans la figure.

II.

- Donnez la définition de la radioactivité.
- Le ^{45}Ca a une période de 163 jours, calculez le pourcentage de radioactivité initiale restant après 90 jours.
- L'activité spécifique d'une solution de phénylalanine (F) marquée de façon uniforme au ^{14}C est de 150mCi/mole. Deux mL de cette solution renferment 1mCi de ^{14}C -F. Calculez la concentration molaire en F de cette solution.

Unité d'enseignement : Transfert de l'information génétique
E. Carbon

2014-2015 CC2

CM : Durée 40 min

TD : Durée 40 min

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

Travaux dirigés 20 points

Un ARN est synthétisé in vitro par l'ARN polymérase T7. Le gène codant pour cet ARN est cloné dans un plasmide portant le promoteur T7. Pour ce clonage, les sites de restriction PstI et KpnI sont créés aux extrémités du gène au cours d'une réaction de PCR. La séquence nucléotidique du gène codant pour l'ARN est indiquée ci dessous :

ACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGTC
GTGCCAGCTGCATTAATGAAT

1°) Donnez la séquence des amorces utilisées dans la PCR (15 nucléotides de l'amorce devront s'hybrider au gène d'intérêt). Justifiez votre réponse (10 points)

2°) La réaction de transcription in vitro est réalisée dans les conditions décrites ci dessous :

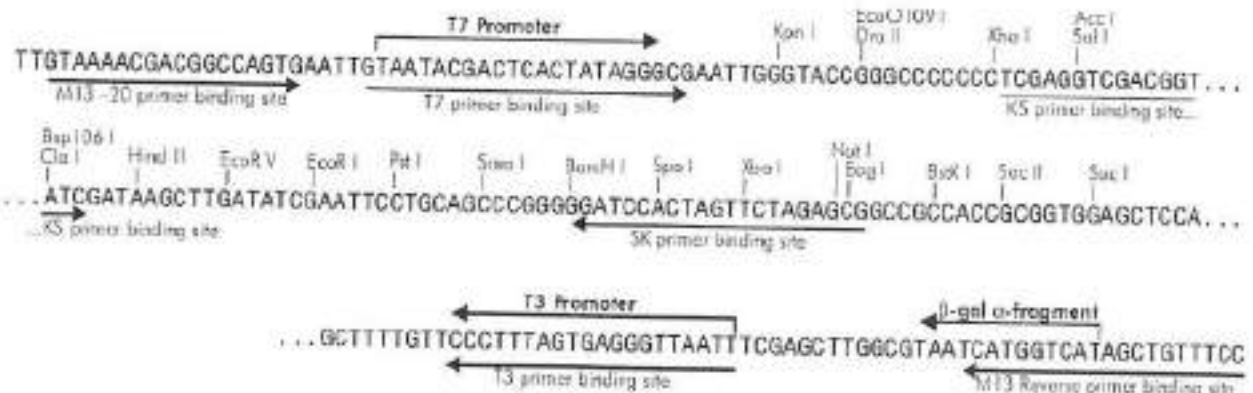
0,25 pmoles d'ADN, DTT 0,1 M, UTP 0,5 mM, GTP 0,5 mM, ATP 0,5 mM, CTP 0,5 mM, Tampon 1X, 10 U RNasin, 50 µCi [α^{32} P]-ATP (3000Ci/mmmole, 10mCi/ml), 2U de T7 RNA polymérase, H₂O q.s.p. 20 µl

Calculez l'activité spécifique de l' [α^{32} P]-ATP dans le milieu réactionnel (6 points)

3°) Décrivez l'autre stratégie vue en TD pour préparer la matrice ADN à ajouter dans une réaction de transcription in vitro (4 points).

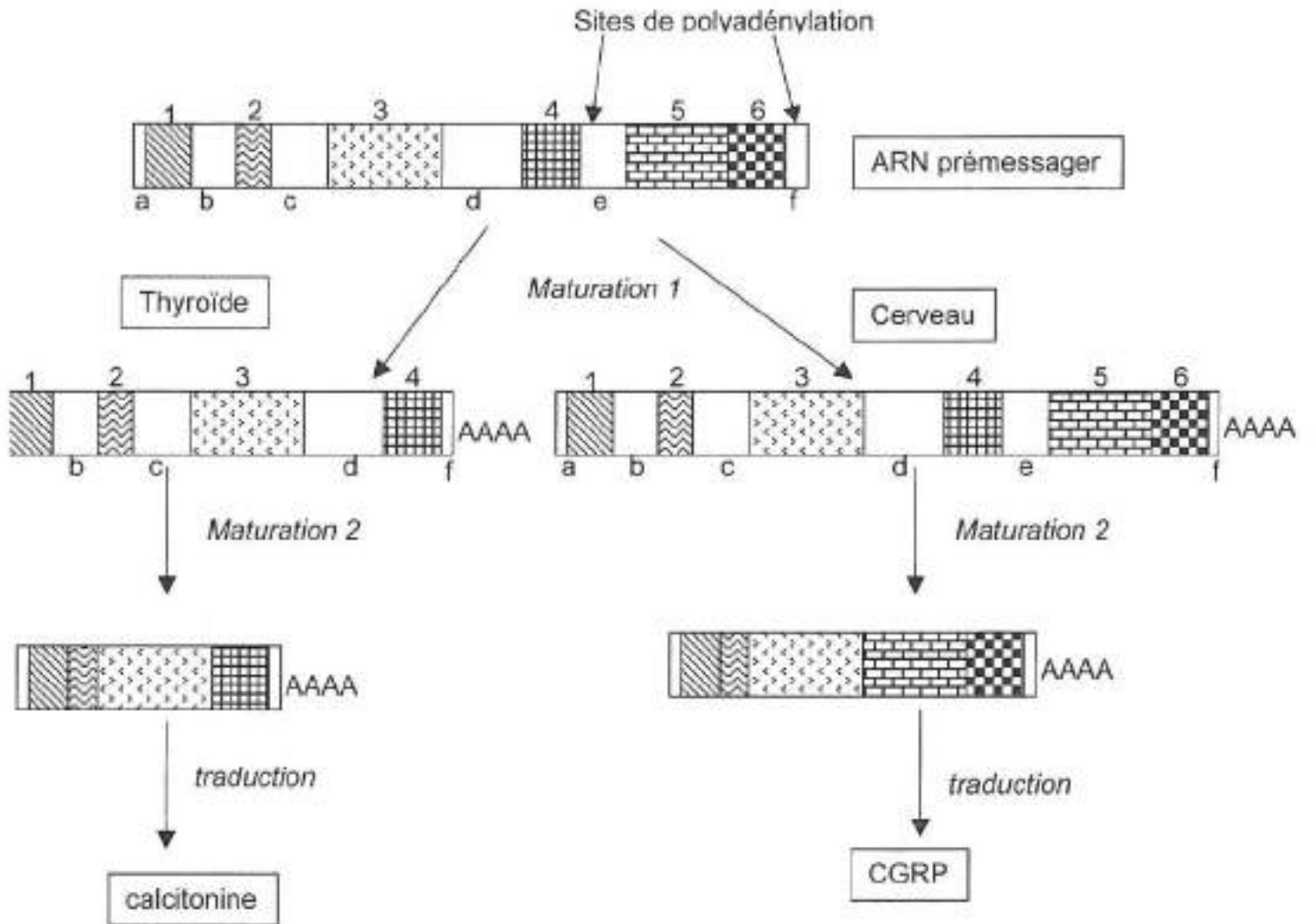
Données :

Les enzymes de restriction KpnI et PstI reconnaissent spécifiquement les séquences suivantes : GGTAC'C et CTGCA'G. Pour que ces enzymes coupent efficacement l'amplicon, deux nucléotides GG doivent être ajoutés en 5' du site de restriction.



Séquence nucléotidique de la cassette de clonage du plasmide utilisé pour le clonage décrit ci-dessus.

Cours : 20 points



- 1°) Donnez le nom et la définition des régions de l'ARN représentées par des rectangles numérotés de 1 à 6 et de a à f (5 points)
- 2°) Décrivez les mécanismes moléculaires impliqués dans les étapes de maturation 1 et 2 (10 points)
- 3°) Qu'est ce qui différencie le messager mature produit dans la thyroïde de celui produit dans le cerveau. Proposez un modèle expliquant ces mécanismes de maturation tissu spécifiques. (5 points)

ATTENTION Toute réponse hors sujet sera sanctionnée

Unité d'enseignement : Transfert de
l'information génétique

E. Carbon

2014-2015 CC3

CM : Durée 1 heure

TD : Durée 1 heure

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

-L'usage d'une calculatrice est limité à des appareils non programmables ne comportant ni écran graphique et ni de caractères alphanumériques. Le prêt d'une calculatrice à un autre candidat est strictement interdit.

I. Cours

La traduction doit être fidèle. Les réactions mises en œuvre à chaque étape de la traduction bactérienne sont spécifiques. Décrivez ces réactions et expliquez comment est assurée cette spécificité.

Une réponse structurée est attendue (introduction, justifiez vos réponses)

TD

Afin de synthétiser du cDNA, les ARN sont isolés à partir de 400 000 cellules eucaryotes. Les ARN totaux obtenus sont mis en solution dans 20 μL d'eau à une concentration de 1,6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Ces 20 μL de solution d'ARN sont traités à la DNase I en présence d'1 unité de DNase I / μg d'ARN et de tampon DNase I 1X. Le volume final du milieu réactionnel est de 50 μL . Après une incubation de 30 min à 37°C, le milieu réactionnel est placé à 70°C pendant 15min.

1 μg d'ARN totaux traités à la DNase I est utilisé pour synthétiser du cDNA. La réaction est effectuée dans un milieu réactionnel d'un volume de 20 μL contenant du tampon Réverse Transcriptase 1X, 0,5mM de chaque dNTPs, 5 μM d'un oligonucléotide de séquence dégénérée et 5 Unités de Réverse Transcriptase.

- Calculez le volume de chaque solution à prélever pour constituer ces 2 milieux réactionnels ;

Solutions stock :

DNase I 100U/ μL , Tampon DNase 10X, Réverse Transcriptase 20U/ μL , Tampon Réverse Transcriptase 10X, oligonucléotide de séquence dégénérée 100 μM , une solution de dNTPs 2,5mM chacun.

II. Une réaction de transcription in vitro est réalisée dans les conditions décrites ci dessous :

1 μL d'ADN (0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), 1 μL d'une solution renfermant les 4 NTPS 10mM chacun, 2 μL DTT 0,1 M, 2 μL Tampon 10 X, 10 U RNasin 40u/ μL , 5 μL [$\alpha^{32}\text{P}$]-ATP

(1500Ci/mmoles, 20mCi/ml), 2U de T7 RNA polymérase, H_2O q.s.p. 20 μL

- Calculez l'activité spécifique de l' [$\alpha^{32}\text{P}$]-ATP dans le milieu réactionnel.

III. Un fragment EcoRI a été inséré dans le site EcoRI d'un plasmide. Après transformation de bactéries compétentes avec les plasmides recombinants, vous souhaitez sélectionner par PCR sur colonie, les colonies renfermant le plasmide recombinant dont la séquence est indiquée dans la figure ci-dessous. Parmi les amorces proposées, quel couple d'amorces allez-vous utiliser pour sélectionner les colonies d'intérêt. Justifiez votre réponse sous forme d'un schéma commenté.

27
26

EcoRI

TATACATCGATAAGCTTGATATC**GAATTC**ACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCCG
TTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAAT**GAATTC**CTGCAGCCCCGGGG
ATCCAGCA EcoRI

Séquence nucléotidique du fragment EcoRI inséré dans le plasmide. Les sites EcoRI sont indiqués en gras. Les séquences en 5' et en 3' du site EcoRI correspondent à la séquence de la cassette de clonage du plasmide.

Amorces mises à disposition :

Amorce 1 : ATCGATAAGCTTGATATC

Amorce 2 : ACTCACATTAATTGCGTT

Amorce 3 : GGATCCCCCGGGCTGCA

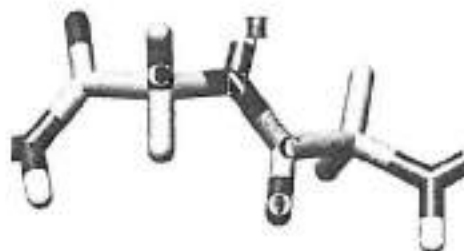
Amorce 4 : ATTCATTAATGCAGCTGG

⊠ Jobstein am Meer
1 Abs (Grand mé)

NUMERO D'ANONYMAT:

Licence Sciences du Vivant, année 2014-2015.
Structures des Protéines et des Acides Nucléiques.
Epreuve spécifique Structures des Protéines. Ecrit 1

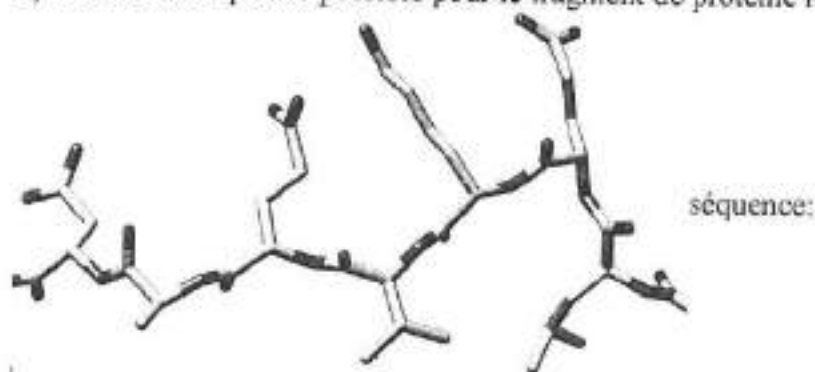
1) Sur la figure ci-contre, placer les angles de torsion et la position de chaque chaîne latérale (qui sera notée R) en respectant la configuration L des acides aminés.



2) Une hélice α est composée de la séquence suivante : VNTLTSDVDRLRKRVEQLSRELDTLRQR
Quelle caractéristique possède cette hélice ?

Imaginer un mode d'association entre deux hélices de ce type.

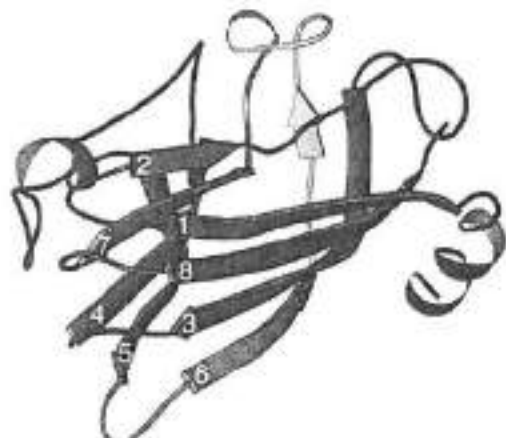
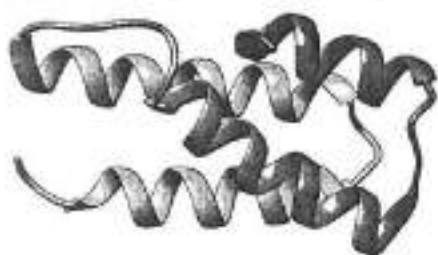
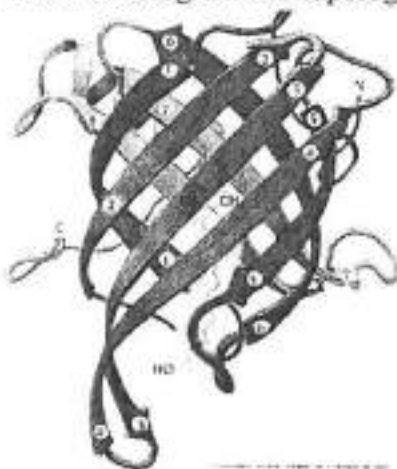
3) Ecrire une séquence possible pour le fragment de protéine représenté sur la figure suivante:



4) Dans l'extrait du fichier PDB suivant, à quoi correspondent les colonnes 2 à 9?

col1	2	3	4	5	6	7	8	9			
ATOM	12	C	VAL	A	17	11.315	31.266	70.402	1.00	14.43	O
ATOM	13	CB	VAL	A	17	14.028	31.353	71.746	1.00	11.59	C
ATOM	16	N	GLY	A	18	11.372	29.164	71.199	1.00	10.96	N
ATOM	17	CA	GLY	A	18	9.928	29.091	71.383	1.00	11.29	C
ATOM	18	C	GLY	A	18	9.111	28.957	70.096	1.00	15.03	C

5) Tracer les diagrammes topologiques et indiquer les noms des repliements des structures suivantes:



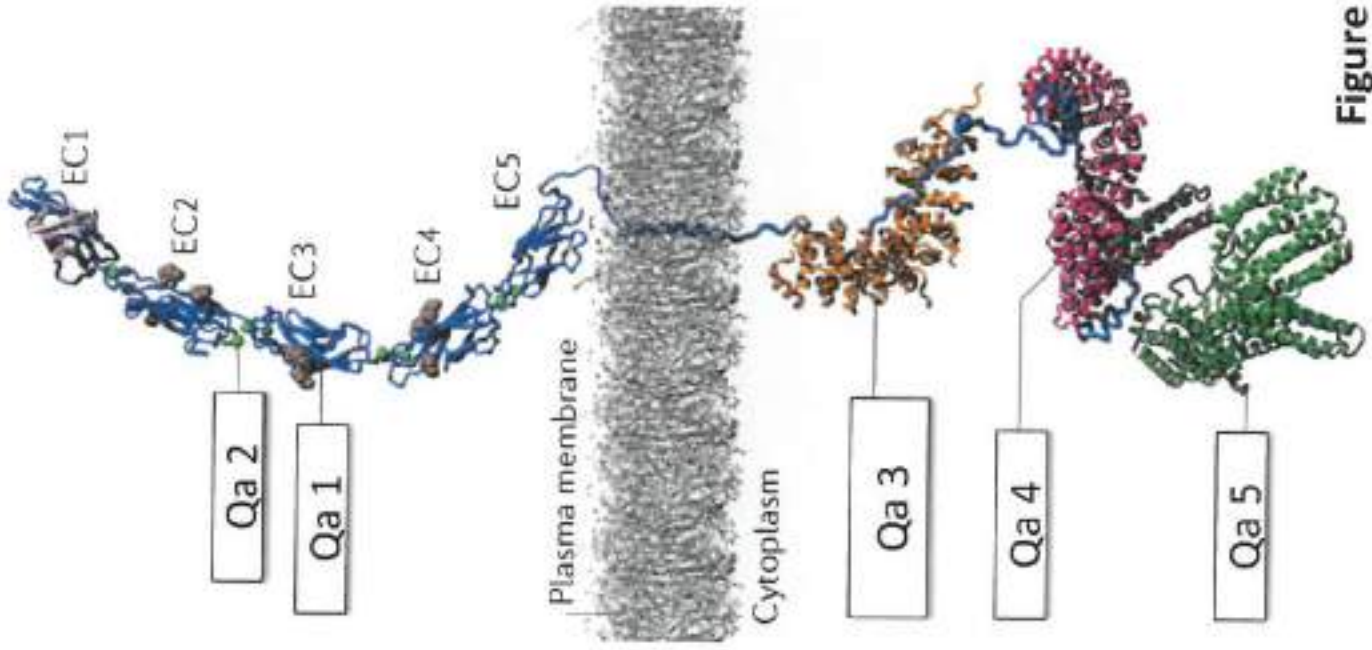


Figure 1

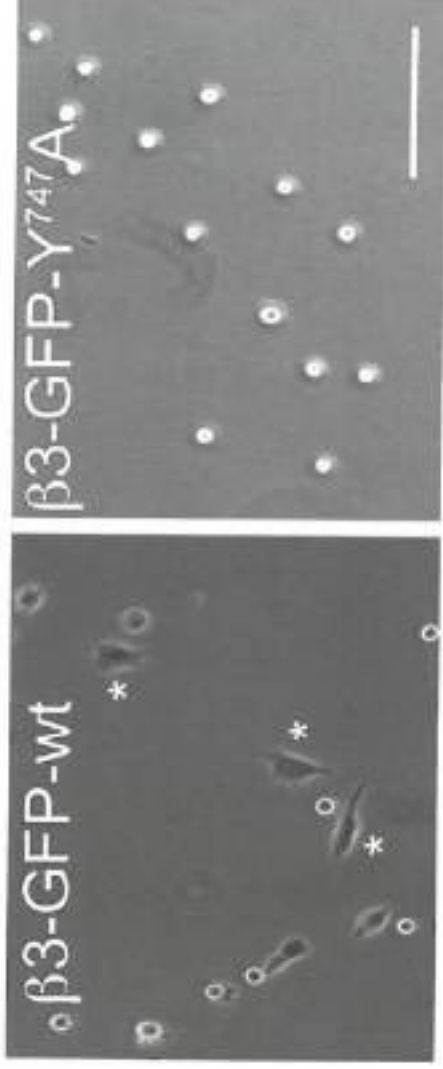
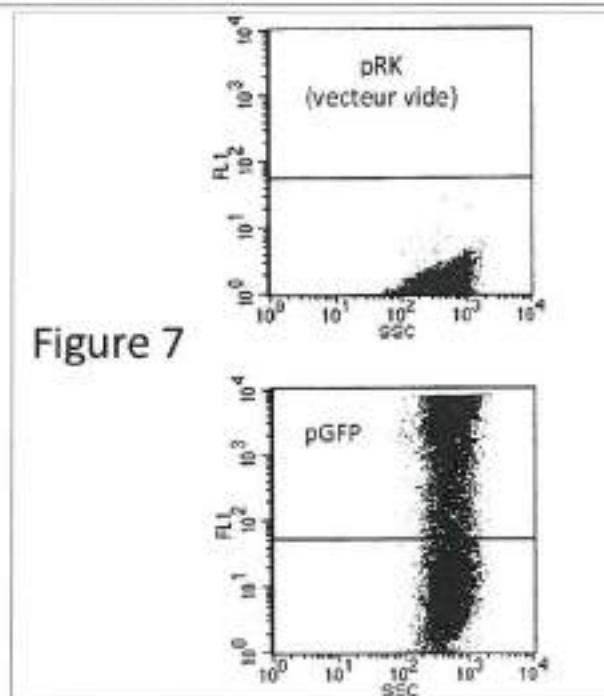
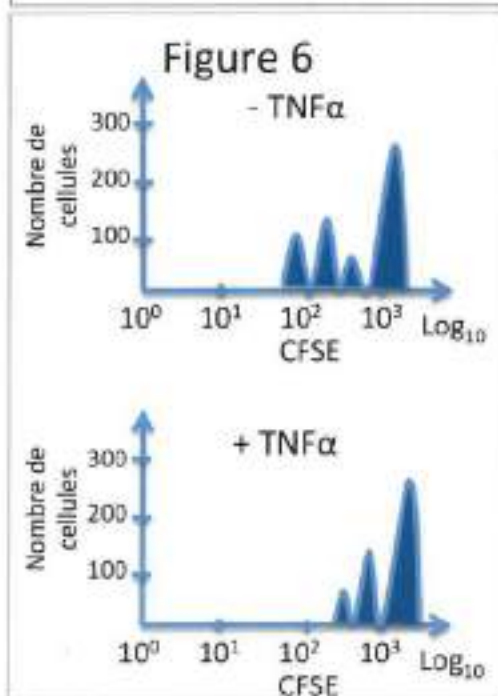
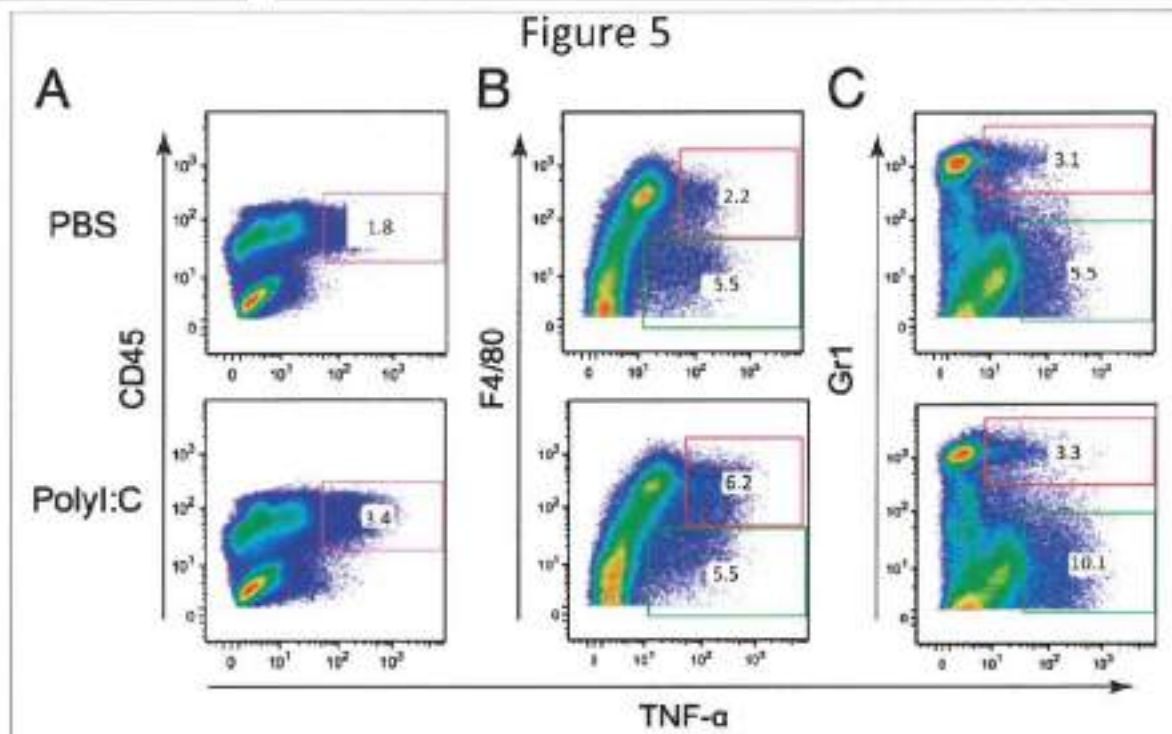
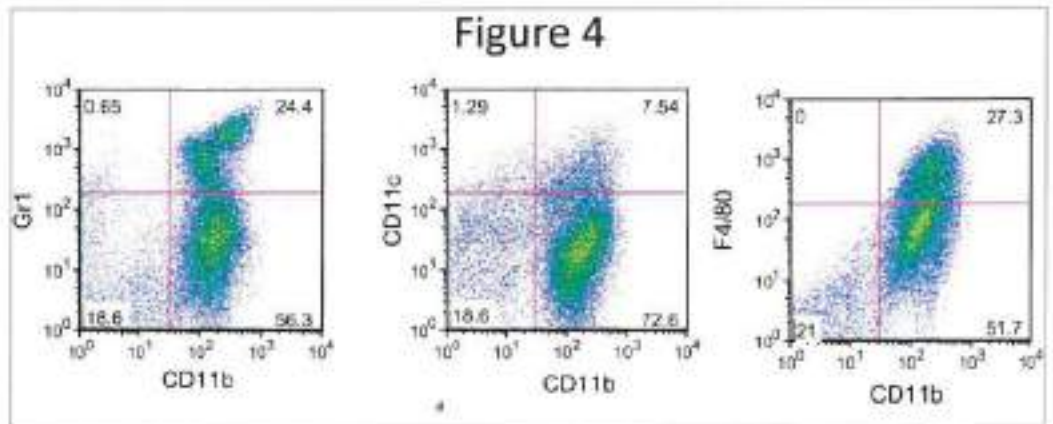
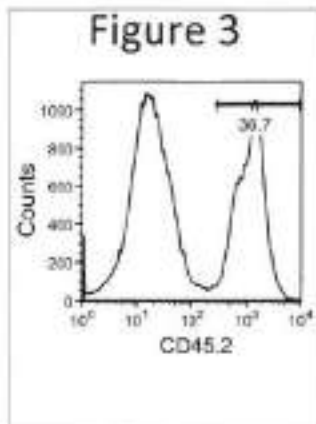


Figure 2: cellules NIH-3T3 transfectées avec des vecteurs exprimant la chaîne intégrine $\beta 3$ sauvage (wt) ou mutée (remplacement de la tyrosine (Y) en position 747 par une alanine (A)). La mutation abolit l'interaction avec la taline.

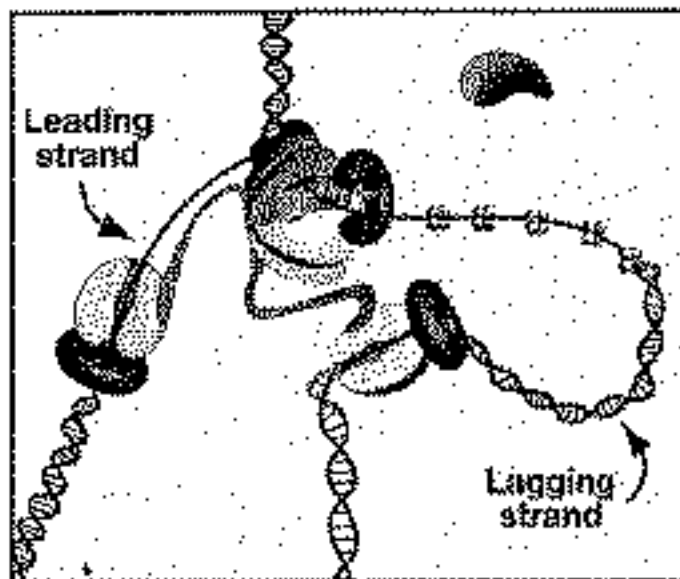


-L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

-L'usage d'une calculatrice est limité à des appareils non programmables ne comportant ni écran graphique et ni de caractères alphanumériques. Le prêt d'une calculatrice à un autre candidat est strictement interdit.

- les documents ne sont pas autorisés

I. Décrivez la figure ci-dessous (identifiez les différentes molécules et expliquez leur rôle dans ce mécanisme moléculaire) (10 points)



II. Marquage des acides nucléiques.

Un fragment d'ADN de 120 paires de bases renfermant 13 dAMP sur un brin et 17 dAMP sur l'autre brin est marqué au ^{32}P lors de sa synthèse par PCR.

Le milieu réactionnel de 50 μl de volume final renferme:

10 pmoles de chacune des deux amorces 1 et 2, les 4 dNTPs 2,5mM chacun, tampon PCR IX, 5u Taq polymérase et 250 μCi d' $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{-dATP}$, 10ng de l'ADN matrice.

Quel volume des solutions stock ci-dessous devez-vous prélever pour constituer ce milieu réactionnel (4 points) . Vous disposez de :

une solution de l'amorce 1, une solution de l'amorce 2 à une concentration 100 μM chacune, une solution tampon PCR 10 x concentrée, une solution des 4 dNTPs 10 mM chacun, l'ADN matrice 1mg/ml, la Taq polymérase à 10U/ μl , et de l' $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{-dATP}$ à 6000Ci/mmoles et 50 mCi/ml.

Calculez l'activité spécifique (mCi/ μmole) de l' $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{-dATP}$ dans le milieu réactionnel (4points). (les calculs intermédiaires doivent être présentés et expliqués)

Calculez l'activité spécifique (mCi/ μmole) de la molécule d'ADN marquée au ^{32}P selon les conditions décrites ci-dessus (2points) .

Unité d'enseignement : Transfert de l'information génétique
E. Carbon

2012/2013

durée totale : 1heure

-L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Question de cours (coefficient 1) Durée 30 min

1°) Après avoir donné la définition d'un promoteur, décrire les caractéristiques des promoteurs des gènes codant pour les protéines chez les mammifères (3 points).

2°) Décrire les modifications épigénétiques ainsi que leurs effets sur l'expression des gènes (7 points). (Structurez votre réponse)

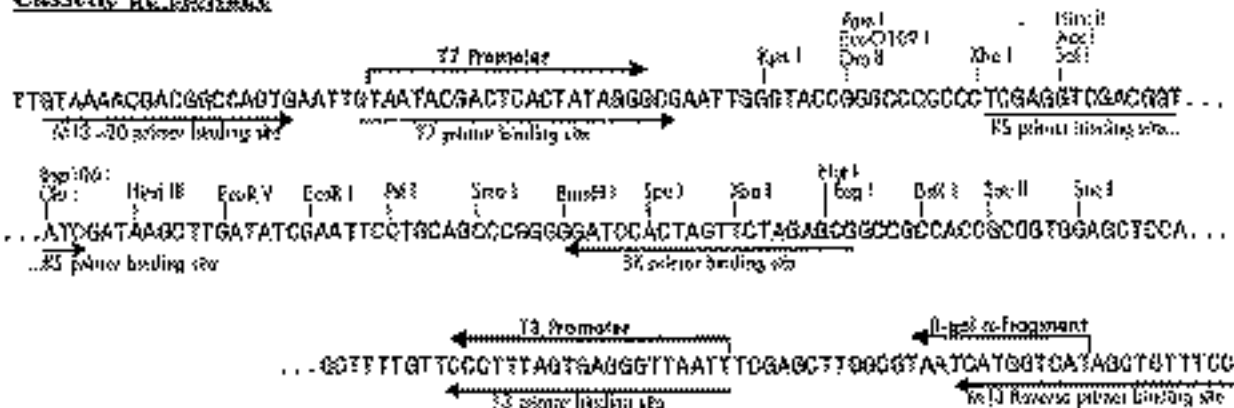
Question de TD (coefficient 1) Durée 30 min

La synthèse d'un ARN de 220 nucléotides est effectuée in vitro par l'ARN polymérase T7. La séquence du gène codant pour cet ARN est indiquée ci-dessous, les sites de restriction sont grisés. Afin de cloner ce gène dans la cassette de clonage ci dessous, des sites de restriction sont créés aux extrémités du gène par PCR. Ces sites de restriction sont choisis de façon à ce que le gène soit inséré dans le vecteur dans un seul sens. Donnez la séquence des amorces utilisées pour cette réaction de PCR. Les amorces doivent s'hybrider sur 17 nucléotides du gène (3 points). Justifiez votre réponse (3 points). Pour effectuer le clonage, vous disposez des enzymes suivants : EcoRI (G'AATTC) BamHI (G'GATCC), XhoI (T'CTAGA), SmaI (CCC'GGG) PstI (C'TGCAG), HindIII (A'AGCTT).

ATGTTCAACAGGATGTCATACCTAAAAGTACAGGGGACAGTTTCGGTCTAGAGGATGGTCAAGCA
GTACAGTTAGAAGATGGTACCACAGCATTGGTACCCACACCTCCAAAGATAGTTATGACCAGAG
TGCATTACAGTCCAGTTCAGCTGGGAAGATGGTACCACAGCTTATATCCACCATGCAGTGCAGTCC
CGCAGTCTGACACCATCTTGGCAA

Citez dans l'ordre chronologique, les différentes étapes expérimentales entre le moment où l'ADN est amplifié par PCR et celui où vous effectuerez la transcription in vitro (4 points)

Cassette de clonage



Unité d'enseignement : *Transfert de l'information génétique*
E. Carbon

2013/2014 épreuve 1 CM / TD

Durée 20 min CM 20 min TD

-L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

-L'usage d'une calculatrice est limité à des appareils non programmables ne comportant ni écran graphique et ni de caractères alphanumériques. Le prêt d'une calculatrice à un autre candidat est strictement interdit.

I. Question de cours (coefficient 1,5)

Donnez la définition d'un terminateur de la transcription chez les bactéries ainsi que ses caractéristiques.

Qu'est ce qui différencie un terminateur d'un atténuateur, (Argumentez votre réponse en vous basant sur des exemples du cours).

II. TD (coefficient 0,5)

1. Un récipient en verre a été contaminé par du ^{32}P . En vue de sa décontamination, ce récipient sera stocké dans un container. Pendant combien de périodes devra t-il être stocké pour que la quantité de radioactivité contaminante passe de $2 \cdot 10^9$ cpm à 156 cpm? (**Remarque** : il ne manque pas de données)

2. La radioactivité contenue dans 100 μL d'une solution 0,5mM de phénylalanine marquée au ^{14}C est comptée. Le nombre de cpm compté est de 11000. Sachant que le rendement du comptage est de 50%, déterminez l'activité spécifique de cette solution en $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$ de Phe. (1 Ci = $2,2 \cdot 10^{12}$ dpm)

Unité d'enseignement : Transfert de l'information génétique
 E. Carbon

2013/2014 épreuve 2CM/1D

Durée 40 min CM 40 min TD

Différents mécanismes moléculaires sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. La protéine ribosomique S13 régule sa propre synthèse. Dans le cadre de l'étude du mécanisme moléculaire impliqué dans la régulation de l'expression du gène de la protéine S13, des cDNA ont été préparés. L'analyse des cDNA a permis de montrer qu'une petite proportion des cDNA codant pour la protéine S13 renferme une région correspondant au premier intron du gène codant pour la protéine S13.

1^o Donnez la définition d'un cDNA, comment les prépare-t-on à partir d'une solution d'ARN totaux isolés de cellules eucaryotes?

2^o Donnez la définition d'un intron

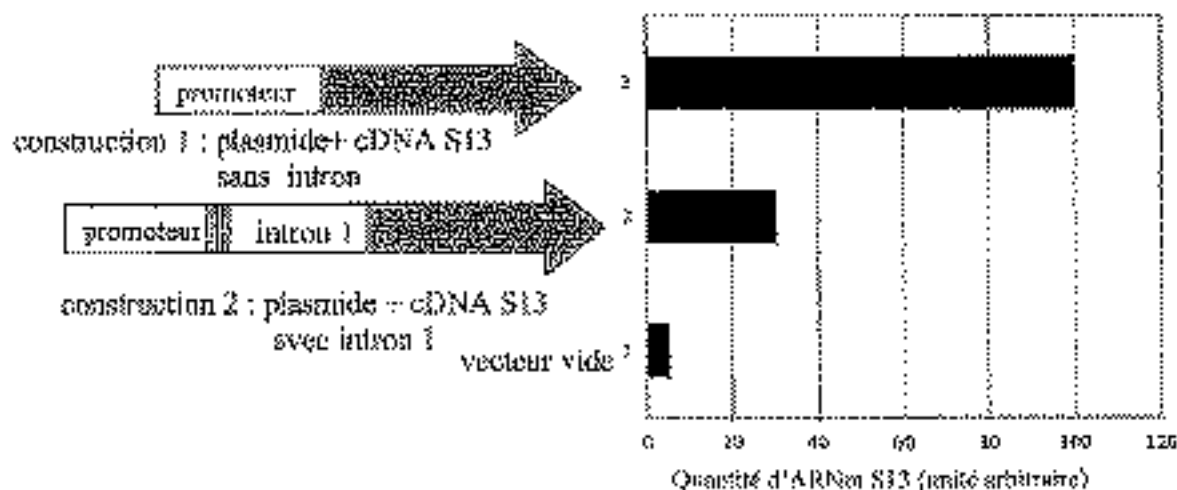
- Comment expliquez-vous le fait qu'un intron puisse être présent dans un cDNA ?

Décrivez le mécanisme moléculaire qui fait défaut.

- Décrivez des méthodes pour mettre en évidence un ARN messager dans une solution d'ARN totaux?

Effet de la présence de l'intron dans l'ARN messager de la protéine S13.

Un test de transcription *in vivo* est réalisé en transfectant des cellules eucaryotes en culture soit avec un plasmide vide soit avec un plasmide recombinant renfermant le cDNA codant pour la protéine S13, contenant ou non l'intron 1 (schéma ci-dessous). Le cDNA est cloné sous la dépendance d'un promoteur eucaryote. Les cellules transfectées sont incubées pendant 18h, les ARN totaux sont extraits et l'ARN messager S13 est quantifié. Les résultats sont présentés dans l'histogramme ci-dessous.



essai 1: cellules transfectées avec le vecteur vide

essai 2 : cellules transfectées avec la construction 2

essai 3 : cellules transfectées avec la construction 1

- Interprétez les résultats ci-dessus. Qu'en concluez-vous?

Pour montrer que la protéine S13 se fixe *in vitro* sur l'intron présent dans l'ARN messager, cet intron est synthétisé *in vitro*.

CGCTCTTCCTTTCGTTGCTGATCGCCGCCATCATGGGTTCGCATGCATGCTCCCGGgt
gagcteggggacatcaagccggattgctggguggggggtgggggggagacagggagtgtgggcagcgggcccaggggatgatgt
ctgggtgcttggcaclagccgcccccaccctcgagacigctctctcccagGAAGGGCCTGTCCCAGTCCGGC
TTTACCCTATOGA CGCAGCGTCCCCACT

Séquence nucléotidique de l'exon 1 et 2 (en lettres capitales) et de l'intron 1 (lettres minuscules) du gène codant pour la protéine ribosomique S13.

- Dessinez les amorces (15 nucléotides de long) nécessaires pour amplifier par PCR l'ADN codant pour l'intron.
- Décrivez les deux stratégies utilisées en laboratoire pour synthétiser un ARN *in vitro* (réponse sous forme d'un schéma commenté)
- Quelle expérience effectuerez-vous pour mettre en évidence l'interaction de la protéine S13 avec l'ARN correspondant à l'intron 1?
- Parmi les 3 ribonucléotides suivants, lequel utiliserez vous pour marquer radioactivement l'ARN synthétisé *in vitro* : [γ - ^{32}P]-GTP, [γ - ^{32}P]-UTP, [α - ^{32}P]-ATP

Toutes vos réponses doivent être justifiées.

Licence sciences du vivant

L3 Biochimie Biologie Moléculaire
Chimie Biologie

Unité d'enseignement : Transfert de l'information génétique

E. Carbon

2013/2014 épreuve 3CM / TD

Durée 1h CM 1h TD

Cours

- Décrivez les événements qui se produisent lors de la phase d'élongation de la traduction (5 points)
- Donnez la définition d'un promoteur, du site d'initiation de la transcription et décrivez l'initiation de la transcription bactérienne (5 points)
- Donnez la définition du spliceosome et décrivez le core catalytique du spliceosome (5 points)
- Quelles sont les caractéristiques de la partie 3' des ARN messagers bactériens (5 points).

Travaux Dirigés

1. Afin de produire dans *E.coli*, une protéine chimère, renfermant dans sa partie N-terminale une partie de la β galactosidase et dans sa partie C-terminale la protéine Staf (chimère : β gal/Staf) l'ADNc codant pour la protéine Staf a été inséré dans le vecteur de clonage pBS (Figure 2) préalablement coupé par les enzymes EcoRI et BamHI (pBS EcoRI/BamHI)

Pour effectuer ce clonage, l'ADNc de la protéine Staf a été amplifié par PCR en présence d'amorces portant chacune l'un des deux sites de coupure reconnu par EcoRI (G'AATTC) ou BamHI (G'GATCC) (l'apostrophe indique le site de coupure de l'ADN par l'enzyme).

1°) Donner la séquence des deux amorces (17 nucléotides de long) utilisées dans la réaction de PCR (justifier votre réponse)

2°) Afin de sélectionner les colonies de bactéries transformées avec le plasmide recombinant, le test Bleu/blanc est effectué. Expliquez en quoi consiste ce test.

TGC CTC TGG GAA GTC GCA CTC GAC C.....GCC ACA GAA AAG GAG AAG TAC CCG
C L W E V F L D.....S T E E E M T L

Figure 1 : Séquence des extrémités 5' et 3' de l'ADNc de la protéine Staf. La séquence en acides aminés de la partie N-terminale et C-terminale de la protéine Staf est donnée sous la séquence de l'ADNc.

Not-----> β Galactosidase **SacI**
GCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCGAAATTAACCCCTCACTAAAGGGCAACAAAGCTGGAG
BamHI **EcoRI** **HindIII**
CTCCACCGCGGTGGCGGCCCGGATCCCCCGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATA
KpnI
GGTACCCaattgccttat

Figure 2 : Séquence de la cassette de clonage du plasmide pBS. Les sites de coupure par les enzymes de restriction sont indiqués en gras et le nom de l'enzyme est noté au-dessous de son site de coupure. Le codon d'initiation de la traduction est indiqué en gras et correspond au codon d'initiation de la β galactosidase.

TSVP.....>

II. Donnez la définition de :

- l'Activité spécifique (AS) d'une solution radioactive
- L'activité volumique (AV)
- Dilution isotopique

Quelle est la conséquence d'une dilution isotopique sur l'AS et sur AV d'une solution radioactive? Expliquez

- Calculez le nombre de dpm/g de ^{14}C pur, exprimez cette activité en, Bq/g, C/mole d'atome
- Quelle est l'activité théorique maximale en C/mole à laquelle la phénylalanine (9 atomes de carbone) uniformément marquée au ^{14}C peut être synthétisée?
- Quel est le pourcentage de molécules marquées dans une préparation de L-phénylalanine ayant une activité spécifique de 492 mCi/mumole?

$$\lambda = 2,31 \cdot 10^{-10} \text{ min}^{-1}, \quad 1 \text{ Ci} = 2,2 \cdot 10^{10} \text{ dpm}$$

TD :

1° Décrivez les stratégies utilisées pour marquer au ^{32}P un fragment d'ADN

2° Calculez le poids en μg d'une Curie de ^{32}P et l'activité spécifique en Ci/mole de ce radio-isotope

1 Ci = $2,2 \cdot 10^{12}$ dpm. Période ^{32}P = 14,3 jours.

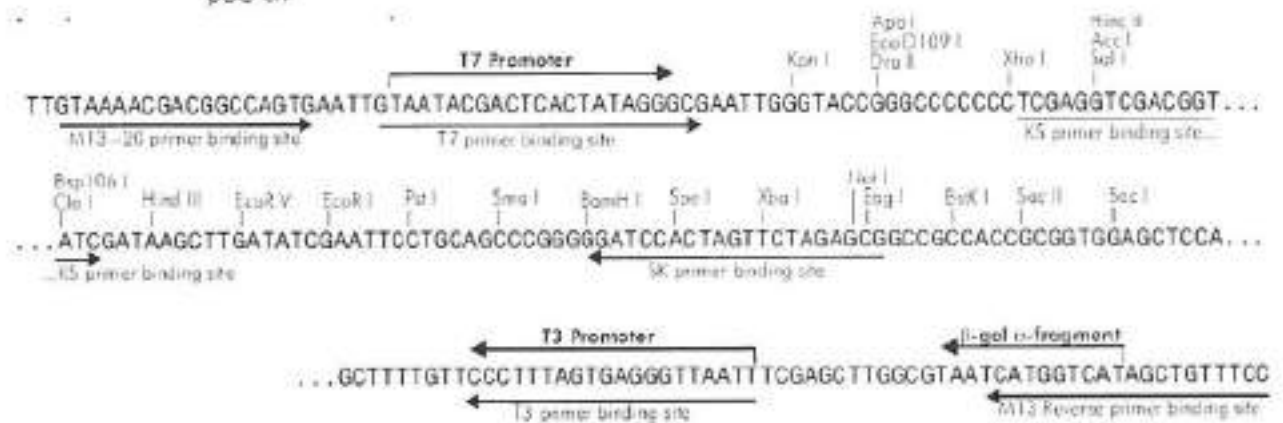
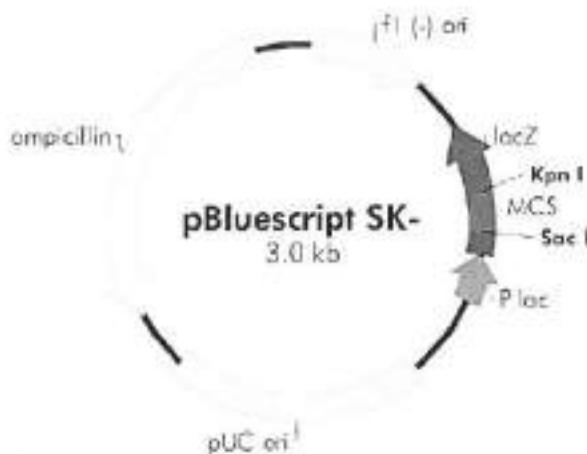
CM :

- Décrivez les caractéristiques de l'ARN polymérase bactérienne et le rôle des sous unités qui la constituent.

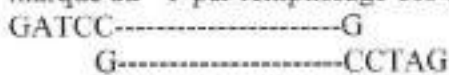
- Comment peut-on mettre en évidence *in vitro* et *in vivo* l'interaction entre une protéine et un fragment d'ADN, (développez votre réponse).

TD

I. Le plasmide ci-dessous renferme plusieurs types de promoteurs (3), quelles sont les caractéristiques de ces promoteurs et dans quel cas les utilise t'on ? (10 points).



II. Le fragment de restriction BamHI (site BamHI : G'GATCC) de 120 paires de bases est marqué au ^{32}P par remplissage des extrémités par la T4 DNA polymérase.



0,6 pmoles du fragment BamHI sont incubés dans un milieu réactionnel de 30 μL renfermant les 4 dNTPs (0,5 mM de chaque), 3 U de T4 DNA polymérase, du Tampon 1X et 5 μCi de $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{-dATP}$ (6000 Ci/mmmole et 10mCi/mL).

1°) Calculez le volume des solutions stock à prélever pour préparer le milieu réactionnel décrit ci-dessus (5 points).

2°) Quelle est l'activité Spécifique ($\mu\text{Ci/nmole}$) du fragment d'ADN marqué (5 points)

Solutions Stock : Fragment BamHI ($100 \text{ ng}/\mu\text{L}$), une solution des 4 dNTPs (5 mM de chaque), T4 DNA polymérase ($1\text{U}/\mu\text{L}$) et H_2O .

PM d'une paire de bases : 660g/mole .

CM

I. Décrivez les différents événements qui se produisent avant que l'ARN polymérase bactérienne n'entre en phase d'élongation (10 points).

II. Qu'est ce que l'atténuation transcriptionnelle, illustrez votre réponse en décrivant le mécanisme moléculaire de la régulation de l'expression de l'opéron tryptophane. Une réponse sous forme d'un schéma commenté est attendue (10 points).