

## Examen final BIO1101 – Section à développement

Répondez directement sur le questionnaire, dans l'espace alloué.

Seul le texte apparaissant à l'intérieur des limites sera transmis.

Le formulaire peut être rempli avec acrobat reader.

Choisissez "Enregistrer sous / Format PDF" et nommer selon votre code permanent

Vous devez soumettre votre formulaire complété sur studium avant le 18 mai à 8h30 et remettre une copie papier pendant l'examen final

### Préambule

Vous avez obtenu par criblage d'une banque d'ADNc la séquence suivante correspondant à l'ARNm d'une nouvelle protéine.

ADNc:

```
1  tcatcggctc tgcaccatgg cctccctggc cgcgctcctg ccctgctgg cctgctggt
61  cctctgcaga ctggatcctg cccaggcctt cgtcaaccag cacctgtgcg gctctcacct
121 ggtggaggcg ctgtacctgg tgtgcgggga gcgcggttt tttatacac ccaagtcccg
181 ccgagagggt gaggagctgc aggtggggca ggcggagctg ggcggggggc ccggcgcggg
241 cggcctgcag ccctcggcgc tggagctggc cctgcagaag cgcggcatcg tggagcagtg
301 ttgcaccagc atctgctcgc tctaccagct ggagaactac tgcaactagg ggtgcccccc
361 accacccct gcccgcgccc cccacgcccc ccgccctcgc cccacccaa taaaccctc
421 cacgcccc ggg
```

### Question 1 (3 points)

Vous désirez produire cette protéine dans les bactéries afin de pouvoir étudier ses propriétés en laboratoire. Lequel des types de vecteurs suivants choisirez-vous? (Cliquez sur le lien pour voir les spécifications du fabricant comme la carte et le manuel d'instruction)

[pBR322](#)

[pGL2](#)

[PinPoint Xa-1](#)

- Indiquez le nom du vecteur choisi :
- Quel élément du vecteur a guidé votre choix (expliquez).

**Question 2 (1 points)**

Vous désirez ensuite créer une souris transgénique qui exprimera cette protéine en fusion avec la protéine GFP. Vous devez donc introduire dans des cellules ES un transgène contenant la séquence de GFP et la région codante de votre nouvelle protéine en phase, et sous le contrôle d'un promoteur. Pour créer votre ADN recombinant, vous devrez utiliser le site EcoRI (GAATTC) présent à la fin de la séquence GFP dans votre vecteur. La fin de la séquence de GFP est représentée ci-dessous. Les triplets vous indiquent le cadre de lecture:

...TCC GGC CGG ACT CAG ATC TCG AGC TCA AGC TTC GAA TTC TGC ...

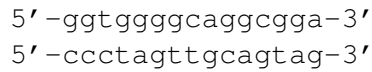
Proposez une amorce de 20 nucléotides incluant le site EcoRI qui vous permettra, avec une autre amorce antisens (non montrée), d'amplifier spécifiquement la région codante pour l'insérer dans cette construction en phase avec GFP.

**Question 3 (4 points)**

Une fois inséré dans le génome de la souris, cette construction donnera une protéine chimérique GFP-X. Pour que cette protéine s'exprime spécifiquement dans les fibroblastes, par exemple, la séquence transgénique devra être insérée à proximité de séquences régulatrices dirigeant l'expression dans les fibroblastes. Expliquez comment l'expression du transgène peut être guidé par le choix du promoteur et des séquences régulatrices.

**Question 4 (2 points)**

Pour en connaître davantage sur la protéine native, vous étudiez son expression chez le rat. Vous avez isolé l'ARNm de différents tissus et le transformez en ADNc. Vous amplifiez ensuite par PCR les séquences obtenues afin d'y détecter, ou non, la présence d'un transcrite correspondant à votre séquence d'intérêt. Dans cette expérience, vous utilisez les deux amorces suivantes:



Après migration sur un gel d'agarose, vos produits d'amplifications peuvent être visualisés (Fig. 1). Comment interprétez-vous ces résultats?

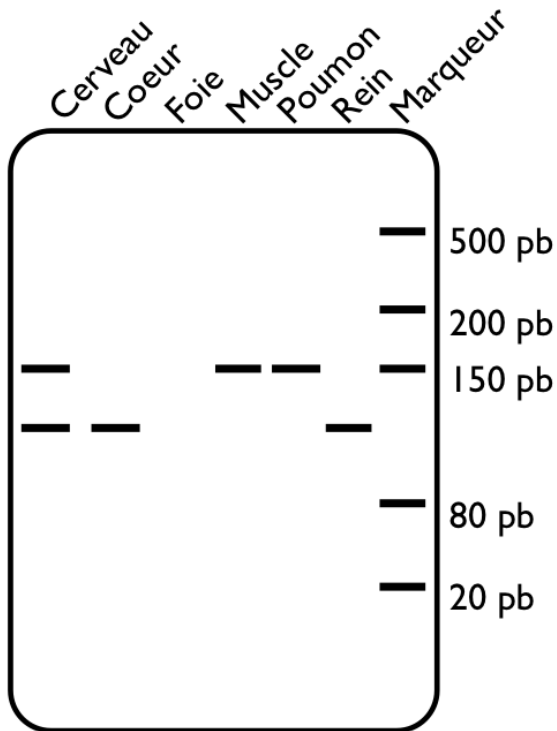


Figure 1.