**Module : Biologie moléculaire**

**Niveau : Master 2**

**Spécialité : Biochimie**

**Série de TD N° 4**

**Les enzymes de restrictions**

**Exercice N°1**

La mutation S affecte un acide aminé de la chaine de béta globine, protéine qui entre dans la constitution de l’hémoglobine. Le tableau ci après présente les séquences de la portion mutée :

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Hb A** | ... Pro Glu Glu ... | **Hb S** | ... Pro Val Glu ... |
| **Allèle A** | ... CCT G**A**G GAG ... | **Allèle S** | ... CCT G**T**G GAG ... |

On veut réaliser une digestion de restriction du gène concerné permettant d’obtenir des fragments de restriction différents pour chacun des allèles A et S. Choisir dans la liste d’enzymes de restriction proposée, l’enzyme qui convient à l’identification des 2 allèles.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Enzyme** | EcoR I | Hind III | Mst II | Hae III | Bam I |
| **Site de restriction** | G/AATTC | A/AGCTT | CT/GAGG | GG/CC | G/GATCC |

**Exercice N°2**

|  |  |
| --- | --- |
| On opère une digestion de restriction d’un ADN plasmidique circulaire de 1.6 kb par 2 enzymes EcoR I et Pst I.Le profil électrophorétique obtenu est le suivant :**1-** Déterminer la taille des fragments de restriction observés. | **http://pedagogie.ac-montpellier.fr/disciplines/svt/adn_tp/images/Image12.gif** |

**2-** On appelle carte de restriction la position des sites de restriction d’une enzyme sur la séquence d’ADN digéré. La carte de restriction EcoR I de l’ADN plasmidique est figurée ci dessous. Construire une carte possible pour l’enzyme Pst I.

|  |  |
| --- | --- |
| Image13.gif (2083 octets) | http://pedagogie.ac-montpellier.fr/disciplines/svt/adn_tp/images/Image14.gif |

**Exercice N°3**

Un fragment d’ADN est coupé d’une part par Sma I et d’autre part par Hind III puis par les deux enzymes ensembles. Les fragments séparés ont la taille suivante :

 Sma I 2,5 et 5,0 kb

 Hind III 2,0 et 5,5 kb

 Sma I et Hind III 2,5, 3,0 et 2,0 kb

Le mélange des fragments produits par la combinaison des 2 enzymes est ensuite digéré par Eco RI. Ceci fait disparaitre le fragment 3kb et apparaitre le fragment 1,5kb. Portez le site de Eco RI sur la carte de restriction.

1/ Quelle technique a été utilisée pour séparer les différents fragments ?