TD N° 3
Transcription et régulation

I - Compléter les propositions suivantes :

1 - Après transcription chez les eucaryotes, les portions de RNA appelées .... sont enlevées et les …….…….. sont collés entre eux pour former un mRNA avec une séquence codante continue.

2 - Lors de la transcription du DNA en RNA, le brin codant a une orientation .....différente que celle de le RNA messager.

3 - Les.....qui se fixent dans la région proximale du promoteur .jouent un rôle déterminant dans la reconnaissance et la fixation de l'ARN polymérase au niveau de site d'initiation de la transcription chez les eucaryotes. Alors que, d'autres facteurs appelés : ....ou .....se fixent sur les séquences « cis régulatrices » ou «.....» permettent l'activation de la transcription.

4 - La coiffe constitue la première étape de la maturation de l'ARNm, permet de protéger l'extrémité 5' de l'ARNm des attaques enzymatiques des ..... Elle est constituée relié au premier nucléotide par une liaison anhydride d'acide

5 - La formation de la queue polyA est assurée par……..…….....après la reconnaissance de La séquence (« AAUAAA » est suivie 11 à 20 nucléotides par 5'YA3' (Y = pyrimidine) et d'une séquence riche en GU en aval) par……qui se fixent sur ces éléments et déclenchent une coupure. Après la polyadénylation des préARNm, des ……..……**,** se fixe sur la queue polyA permettant la stabilisation de l'ARNm et l'initiation de la traduction.

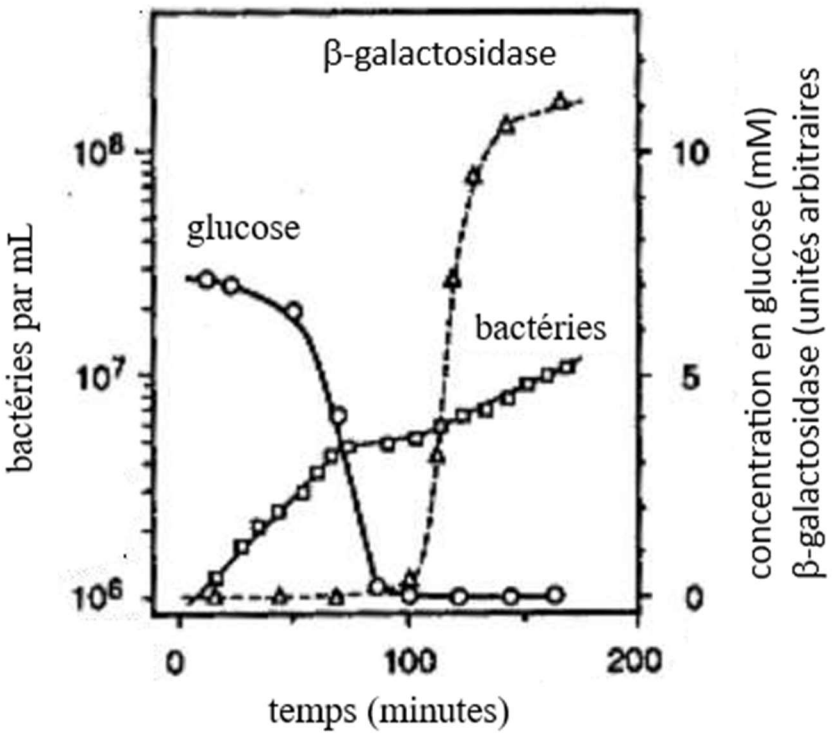
6 - L'épissage maturation de la préARNm qui consiste à une réaction de ……...……où une liaison ester phosphate des mRNA constitue le mécanisme……..……..…au cours de la est transférée d'un sucre à un autre. Ce processus est contrôlé par ……..…….

7 - L'ARN editing concerne.…….……..…qui permet d'aboutir à un ARNm dont la séquence diffère de celle du brin de l'ADN sens : addition, suppression, substitution d'une ou de plusieurs nucléotides.

II - Contrôle de l'Opéron Lactose

E. coli pousse plus vite sur du glucose (monosaccharide) que sur du lactose (disaccharide) ; pour deux raisons : premièrement, le lactose est prélevé plus lentement que le glucose. Deuxièmement, le lactose doit d'abord être hydrolysé en glucose et galactose (par la β-galactosidase) avant d'être métabolisé plus avant.

Quand on fait pousser ***E. coli*** sur un milieu contenant un mélange de glucose et de lactose, elle présente une cinétique de croissance complexe (carrés, voir figure). Les bactéries croissent plus vite au début qu'à la fin, et il existe une latence entre ces deux phases de croissance, pendant laquelle elles cessent quasiment de pousser. Des mesures expérimentales des concentrations des deux sucres dans le milieu montrent que le glucose chute à des niveaux très faibles après quelques cycles cellulaires (cercle, voir figure), mais que le lactose reste élevé quasiment jusqu'à la fin de l'expérience. Bien que la concentration en lactose soit élevée tout au long de l'expérience, la β-galactosidase régulée avec l'opérn lac auquel elle appartient, n'est induite qu'après plus de 100 minutes (Triangle, voir Figure).



1 - Expliquer la cinétique de croissance bactérienne au cours de l'expérience. Justifier la vitesse rapide de la croissance initiale, la vitesse plus lente de la croissance finale, et l'arrêt de croissance au milieu de l'expérience.

2 - Explique pourquoi l'opéron lac n'est pas induit par le lactose au cours de la phase rapide initiale de croissance bactérienne.

III - Régulation spécifique des gènes de l'albumine des tissus hépatiques

Chez les eucaryotes, l'activation de la transcription dépend des mécanismes fondés en particulier sur l'interaction des séquences d'ADN (en cis) et des protéines (facteurs trans).

L'albumine est l'une des protéines majeures du plasma sanguin. Ses fonctions physiologiques sont nombreuses. Sa synthèse et sa sécrétion sont une fonction spécifique du foie adulte. Cette fonction apparait au cours de la différentiation des hépatocytes au cours de la vie fœtale.

Des cellules d'hépatome du rat ont été isolées a partir des tissus cancéreux et maintenues en culture en formant des lignés d'hépatomes. Certaines de ses lignées sont dites différentiés parce qu'elles présentent les caractéristiques phénotypiques des hépatocytes, plus précisément la capacité de synthèse de l'albumine. Les lignées dites dédifférenciées ont perdu la fonction spécifique des hépatocytes à synthétiser l'albumine. Il a été montré qu'une séquence de 400pb en 5' du gène d'albumine est responsable de l'expression de tissu spécifique de l'albumine.

1 - Décrire les modalités expérimentales ? Comment préparer le plasmide ? Proposer une méthode pour le dosage de l'activité CAT ?

2 - Analyser la figure ci-dessous ?

3 - Ou sont situés les gènes impliqués dans la régulation de la transcription du gène d'albumine ? Y en a il plusieurs, quels sont leurs rôles ?

