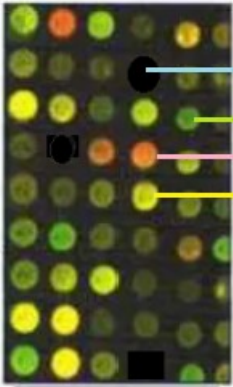


Techniques de biologie moléculaire : Puce à ADN-correction

Exercice 1



Une puce à ADN correspondant au génome humain est incubée avec des ADNc marqué en vert, produits à partir des ARN extraits d'un tissu cancéreux, et des ADNc marqué en rouge, produits à partir des ARN extraits d'un tissu sain.

- Signalez :
- (1) un gène ne s'exprimant ni dans le tissu sain ni dans le tissu cancéreux
 - (2) un gène ne s'exprimant que dans un tissu sain
 - (3) un gène ne s'exprimant que dans un tissu cancéreux
 - (4) un gène s'exprimant dans les tissus sains et cancéreux.

Quels gènes conseillez vous d'étudier pour comprendre les mécanismes de cancérisation ?

(2) et (3) = gènes respectivement inhibés et activés lors d'un cancer

Exercice 2 :

On utilise une puce à ADN fabriquée à partir d'un ensemble de gènes du Pois, et on cherche à comparer le niveau d'expression de ces gènes dans deux conditions de culture différentes, stress hydrique et condition normale (docB). Au préalable, on a réalisé une expérience dans laquelle on compare les signaux détectés lors de l'hybridation de cette puce par deux ensembles d'ADNc, marqués par deux fluorochromes différents (Cy3 et Cy5), mais synthétisés à partir d'un même échantillon initial d'ARNm extrait dans des cellules de pois en conditions normales (docA). L'intensité de la fluorescence de chaque spot sur la puce permet de construire les graphiques A et B.

1) Analyser et commenter les résultats de l'expérience présentée dans le doc A. Quel est son intérêt ?

La première expérience est une expérience témoin permettant de comparer l'intensité des marqueurs Cy5 et Cy3.

On observe :

- une bonne linéarité de l'intensité des deux marquages. Le nuage de point indique la variabilité des mesures ou de l'expression des gènes d'une mesure à l'autre... (sans cette variabilité on devrait obtenir une ligne)
- l'intensité est systématiquement légèrement plus faible pour Cy5.

2) Analyser et commenter les résultats de la comparaison des deux traitements (docB). Quelles conclusions tirez vous :

- du profil d'expression des gènes qui se trouvent dans les zones A, B, C, D et E ?

A : gènes exprimés de manière identique avec ou sans stress hydrique

B : gènes très faiblement exprimés dans les 2 situations, exploitation difficile

C : gènes fortement exprimés en cas de stress hydrique, mais pas en conditions normales => Le stress hydrique stimule l'expression des gènes du groupe C

D : gènes fortement exprimés en conditions normales, mais pas en cas de stress hydrique => le stress hydrique inhibe l'expression des gènes du groupe D

E : gènes plus exprimés en conditions normales qu'en cas de stress hydrique => le stress hydrique inhibe partiellement l'expression de ces gènes

- profil d'expression des deux gènes signalés par des flèches ?

Les gènes correspondant aux points indiqués par des flèches présentent de légers biais d'expression, mais à ces biais sont aussi observés chez le témoin. Ils ne sont donc pas significatifs.

3) Par quel(s) type(s) d'expérience(s) pourrait-on prolonger cette étude ?

Il faut à présent

- (1) identifier les gènes correspondant aux zones C, D (ainsi que E et la région symétrique de E) et les protéines codées.
- (2) réaliser une mutagenèse ciblée sur ces gènes pour étudier leur rôle en condition normale ou stress hydrique
- (3) localiser l'expression de ces gènes par immunomarquage, hybridation in situ,....
- (4)