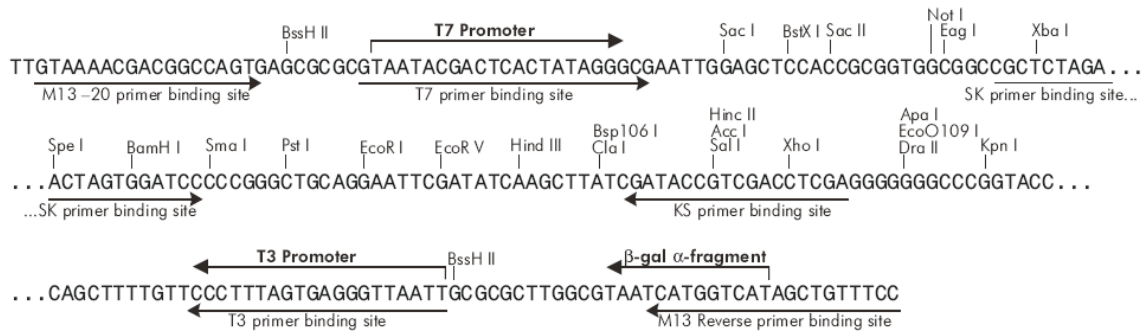


Les constructions ont été réalisées au laboratoire par L Damier
Toutes les constructions ont été réalisées dans le plasmide pBluescript KS II +
Les séquences HIV sont celles de l'isolat HIV-1 BRU/LAI, N° accession Genbank K02013

Les autres constructions sont utilisées pour de l'épissage in vitro

MCS du pBluescript KS II+

pBluescript II KS (+/-) Multiple Cloning Site Region (sequence shown 598-826)



Les constructions HIV sont insérées entre le site BamHI et EcoRI
Le promoteur utilisé est celui du plasmide
Les constructions C1 et C2 sont linéarisées par EcoRI pour la transcription

Construction C2

Polylinker :

+1

TAATACGACTCACTATAGGCGCAATTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTA
GAAGTAGTGGATCC

Taille : 69 nt
En vert : séquence du promoteur T7
En rouge : site BamHI
Nombre de A : 16
Nombre de T : 14
Nombre de C : 19
Nombre de G : 20
PM ds : 42 058 Da

Exon 1 (D1) :

```

1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtggtgccc cgtctgttgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtggtgaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggctt gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcgactg 289

```

Taille exon D1: 289 nt
LTR : 1 à 180
Nombre de A : 67
Nombre de T : 64
Nombre de C : 70
Nombre de G : 88
PM ADN ds : 175 949 Da

Intron :

```
290 g tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa
361 gcggggggaga attagatcga tggga385 gatct 4669tg aggattagaa
4681 catggaaaag tttagtaaaa caccatatgt atgtttcagg gaaagctagg ggatgggttt
4741 atagacatca ctatgaaagc cctcatccaa gaataagttc agaagtacac atcccactag
4801 gggatgctag attggttaata acaacatatt ggggtctgca tacaggagaa agagactggc
4861 atctgggtca gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag atatagcaca caagtagacc
4921 ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga ctgtttttca g 4971
```

Taille intron : 404 nt

Nombre de A : 137

Nombre de T : 95

Nombre de C : 63

Nombre de G : 109

PM ADN ds : 245 118 Da

Exon 2 (A2) :

```
4972 actctgcta
4981 taagaaagcg cttattagga catatagtta gccctagggtg tgaatatcaa gcaggacata
5041 acaggtagg atc5053gaattc
```

nt : site D3

nt : site EcoRI

Taille exon2: 83 nt

Nombre de A : 29

Nombre de T : 20

Nombre de C : 14

Nombre de G : 20

PM ADN ds : 50 365 Da

ADN C2 :

```
TAATACGACTCACTATAGGCGGAATTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCC
1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgtgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtggaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggtt gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcga255 tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa
361 gcggggggaga attagatcga tggga385 gatct 4669tg aggattagaa
4681 catggaaaag tttagtaaaa caccatatgt atgtttcagg gaaagctagg ggatgggttt
4741 atagacatca ctatgaaagc cctcatccaa gaataagttc agaagtacac atcccactag
4801 gggatgctag attggttaata acaacatatt ggggtctgca tacaggagaa agagactggc
4861 atctgggtca gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag atatagcaca caagtagacc
4921 ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga ctgtttttca gactctgcta
4981 taagaaagcg cttattagga catatagtta gccctagggtg tgaatatcaa gcaggacata
5041 acaggtagg atc 5053gaattc
```

```
TAATACGACTCACTATAGGCGGAATTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCCggtctc
tctgggttagaccagattttgagcctgggagctctctggctaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagct
tgctttgagtgttcaagtagtgtgtgccgctctgtttgtgtgactctggtaactagagatccctcagaccctttt
agtcagtgtggaaaatctctagcagtggtggcgccgaacagggagcttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctc
tcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagagggcagggggagggcga255 tgggtgagtacgccaaaaat
tttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgat
gggagatcttgaggattagaacatggaaaagtttagtaaaacaccatatgtatgtttcaggggaaagctaggggat
ggttttatagacatcactatgaaagccctcatccaagaataagttcagaagtacacatcccactaggggatgcta
gattggttaataacaacatattggggctctgcatacaggagaaagagagactggcatctgggtcagggagctccatag
```

aatggaggaaaaagagatatagcacacaagtagaccctgaactagcagaccaactaattcatctgtattactttg
actgtttttcagactctgtctataagaaaggccttattaggacatatagttagccctaggtgtgaatatcaagcag
gacataacaggttaggatcgaattc

Linéarisation par EcoRI :

TAATACGACTCACTATAGGGCGAATTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCCggtctc
tctgggttagaccagattttgagcctgggagctctctgggtaactaggggaacccactgcttaagcctcaataaagct
tgccttgagtgtttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagaccctttt
agtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctc
tcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagagggcagggggagggcgaactgggtgagtagcggcaaaat
tttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgat
gggagatcttgaggattagaacatggaaaagtttagtaaaacaccatatgtatgtttcagggaaagctaggggat
ggttttatagacatcactatgaaagccctcatccaagaataagttcagaagtacacatcccactaggggatgcta
gattggtaataacaacatattgggggtctgcatacaggagaaagagactggcatctgggtcaggggagctccatag
aatggaggaaaaagagatatagcacacaagtagaccctgaactagcagaccaactaattcatctgtattactttg
actgtttttcagactctgtctataagaaaggccttattaggacatatagttagccctaggtgtgaatatcaagcag
gacataacaggttaggatcg

Taille de la construction C2 : 845 nt
Nombre de A : 249
Nombre de T : 193
Nombre de C : 166
Nombre de G : 237
PM ADN ds : 513 380 Da

Taille intron : 404 nt
Taille exon 1 : 351 nt
Taille exon 2 : 83 nt

ARN C2 non épissé :

GGGCGAAUUGGAGCUCCACCGCGGUGGCGGCCGCUUAGAACUAGUGGAUCCggucucucugguuagaccagauu
ugagccugggagcucucuggcuaacuaggggaacccacugcuuaagccucaauaaagcuugccuugagugcuucaa
guagugugugcccugucuguugugugacucugguuacuagagauccucagacccuuuagucagugugggaaauc
ucuagcagugggcgcccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagaggagcucucucgacgcaggacucggc
uugcugaagcgcgcacggcaagaggcgaggggagggcgaactgggugagtagcggcaaaauuuuagacuagcggaggcu
agaaggagagagaugggugcgagagcgucaguauuaagcgggggagaauuagaucgaugggagauuuagaggauu
agaacauaggaaaaguuuaguaaaacaccuauuguuucaggggaaagcuaggggaugguuuuauagacaucac
uauagaaagcccucauccaagaauaaguucagaaguacacaucccacuaggggaugcuagauugguaauaacaaca
uauuggggucugcauacaggagaaagagacuggcaucuggggucagggagucuccauagaauaggaggaaaaagaga
uauagcacacaaguagaccugaacuagcagaccaacuaauuacucuguaauuacuuuagacuguuuuuagacucu
cuauaagaaaggccuuauuaggacauauaguuaagccuagggugugaauaucaagcaggacauaacagguagga
ucg

Taille ARN pré messenger : 828 nt
Taille exon 1 : 341 nt
Taille intron : 404 nt
Taille exon 2 : 83 nt

Nombre de A : 242
Nombre de U : 188
Nombre de C : 162
Nombre de G : 236
PM ARN ss : 264 372 Da

Nombre de U ds l'ARN pré messenger : 188
Nombre de U ds l'intron+exon2 : 115
Nombre de U ds l'intron : 95
Nombre de U ds l'exon 1 : 73

Nombre de U ds l'exon 2 : 20

ARN C2 épissé :

GGGCGAAUUGGAGCUCCACCGCGGUGGCGGCCGCUCUAGAACUAGUGGAUCCggucucucugguuagaccagauu
ugagccugggagcucucuggcuaacuagggaaacccacugcuuaagccucaauaaagcuugccuugagugcuucaa
guagugugugcccgucuguugugugacucugguaacuagagaucccucagacccuuuuagucaguguggaaaauc
ucuagcaguggcgcccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagaggagcucucucgacgcaggacucggc
uugcugaagcgcgacggcaagaggcgaggggagggcgaug/accucugcuauaagaaaggccuuuuaggacaua
uaguuagcccuaggugugaauaucaagcaggacauaacaagguaggaucg

GGGCGAAUUGGAGCUCCACCGCGGUGGCGGCCGCUCUAGAACUAGUGGAUCCggucucucugguuagaccagauu
ugagccugggagcucucuggcuaacuagggaaacccacugcuuaagccucaauaaagcuugccuugagugcuucaa
guagugugugcccgucuguugugugacucugguaacuagagaucccucagacccuuuuagucaguguggaaaauc
ucuagcaguggcgcccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagaggagcucucucgacgcaggacucggc
uugcugaagcgcgacggcaagaggcgaggggagggcgaugaacucugcuauaagaaaggccuuuuaggacaua
aguuagcccuaggugugaauaucaagcaggacauaacaagguaggaucg

Taille ARN m : 424 nt

Taille exon 1 : 341 nt

Taille exon 2 : 83 nt

Nombre de A : 105

Nombre de U : 93

Nombre de C : 99

Nombre de G : 127

PM ARN ss : 135 572 Da

Nombre de U ds l'ARNm : 93

Construction D1-NRS-A2

Promoteur :

CCC**AAGCTT**GGG**AAATTTAATACGACTCACTATAG**⁺¹GGTCTCTCTGGTTAGACCAG

Oligo 5418

nt : site HindIII

nt : T7

D1 :

```
1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtggaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggcct gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcgactgg tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg 340
```

taille : 340 nt

non gras : exon

gras : intron

nt : site épissage

NRS :

```
691 ggtctctccc ccaggccgg agtgcacga
721 gaaaccagca acggagcggc gaatcgacaa aggggaggaa gtgggagaaa caactgtgca
781 gcgagatgcg aagatggcgc cggaggaaac ggccacacct aaaaccgttg gcacatcctg
841 ctatcattgc ggaacagcta ttggctgtaa ttgcgccaca gcctcggctc ctccctcctc
901 ttatgtgggg agtgggttgt atccttcct ggcgggggtg ggagagcagc aaaatt
```

taille : 267 nt (sans site ER)

en bleu : NRS

en bleu ciel : nt fictifs ajoutés au NRS

A2 :

```
4871 gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag atatagcaca caagtagacc
4921 ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga ctgtttttca gactctgcta
4981 taagaaagcg cttattagga catatagtta gccctagggt tgaatatcaa gcaggacata
5041 acaaggtagg atc5053gaattc
```

taille : 189 nt

non gras : exon

gras : intron

nt : site épissage

nt : site EcoRI

Construction LACE = pC2-NRS WT

Construction de départ : C2

TAATACGACTCACTATAGGCGAATTGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCC

```

1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ctttttagtc agtgtggaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggctt gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcgactgg tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa
361 gcggggggaga attagatcga tggga385 gatct 4669tg aggattagaa
4681 catggaaaag tttagtaaaa caccatatgt atgtttcagg gaaagctagg ggatggtttt
4741 atagacatca ctatgaaagc cctcatccaa gaataagttc agaagtacac atcccactag
4801 gggatgctag attggttaata acaacatatt ggggtctgca tacaggagaa agagactggc
4861 atctgggtca gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag atatagcaca caagtagacc
4921 ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga ctgtttttca gactctgcta
4981 taagaaaggc cttattagga catatagtta gccctagggtg tgaatatcaa gcaggacata
5041 acaggttagg atc 5053 gaattc

```

nt : délétion

Construction LACE :

ccc**aagctt**ggg**aaatttaatacgactcactatagg**

```

1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ctttttagtc agtgtggaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggctt gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcgactgg tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg340 agatct691 ggtctctccc
701 ccaggtccgg agtgcacgca gaaaccagca acggagcggc gaatcgacaa aggggaggaa
761 gtgggagaaa caactgtgca gcgagatgca aagatggcgc cggaggaaaac ggccacacct
821 aaaaccgttg gcacatcctg ctatcattgc ggaacagcta ttggctgtaa ttgcgccaca
881 gcctcggtc ctcctcctcc ttatgtgggg agtgggttgt atccttcctt ggcgggggtg
941 ggagagcagc aaaatt 956ctgcag 4871 gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag
4901 atatagcaca caagtagacc ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga
4961 ctgtttttca gactctgcta taagaaaggc cttattagga catatagtta gccctagggtg
4721 tgaatatcaa gcaggacata acaggttagg atcgaattc

```

Après linéarisation par EcoRI :

ccc**aagctt**ggg**aaatttaatacgactcactatagg**

```

1 ggtctctctg gttagaccag atttgagcct gggagctctc tggctaacta gggaaccac
61 tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt
121 gtgactctgg taactagaga tccctcagac ctttttagtc agtgtggaaa atctctagca
181 gtggcgcccg aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag
241 gactcggctt gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg aggcgactgg tgagtacgcc
301 aaaaattttg actagcggag gctagaagga gagagatggg340 agatct691 ggtctctccc
701 ccaggtccgg agtgcacgca gaaaccagca acggagcggc gaatcgacaa aggggaggaa
761 gtgggagaaa caactgtgca gcgagatgca aagatggcgc cggaggaaaac ggccacacct
821 aaaaccgttg gcacatcctg ctatcattgc ggaacagcta ttggctgtaa ttgcgccaca
881 gcctcggtc ctcctcctcc ttatgtgggg agtgggttgt atccttcctt ggcgggggtg
941 ggagagcagc aaaatt 956ctgcag 4871 gggagtctcc atagaatgga ggaaaaagag
4901 atatagcaca caagtagacc ctgaactagc agaccaacta attcatctgt attactttga
4961 ctgtttttca gactctgcta taagaaaggc cttattagga catatagtta gccctagggtg
4721 tgaatatcaa gcaggacata acaggttagg atcg

```

ccc**aagctt**ggg**aaatttaatacgactcactatagg**ggtctctctggttagaccagatttgagcctgggagctctc
ctggctaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgttcaagtagtgtgtgcccgtc

tgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgccc
 gaacagggacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcac
 ggcaagaggcgaggggaggcgactggtgagtagcgcacaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgg
 gtagatctggtctctccccagggtccggagtgcatcgagaaaccagcaacggagcggcggaatcgacaaaggggagg
 aagtgggagaaacaactgtgcagcgagatgcgaagatggcgccggaggaaacggccacacctaaccgttgga
 catcctgctatcattgcggaacagctattggctgtaattgcgccacagcctcggctcctcctcctccttatgtgg
 ggagtgggtttgtatccttccctggcgggggtgggagagcagcaaaattctgcaggggaggtctccatagaatggag
 gaaaaagagatatagcacacaagtagaccctgaactagcagaccaactaattcatctgtattactttgactgttt
 ttcagactctgctataagaaaggccttattaggacatatagtttagccctaggtgtgaatatcaagcaggacataa
 caaggtaggatcg

Taille construction LACE : 838 nt

en rouge : sites de restriction

en vert : séquence du promoteur T7

en noir fin : exon

en gras : intron

En bleu : NRS

En marron : pseudo site 5'

En bleu ciel : nt fictifs ajoutés au NRS

en rose : site épissage

Nombre de A : 227

Nombre de T : 180

Nombre de C : 189

Nombre de G : 242

PM ADN ds : 509 661 Da

Taille intron : 430 nt

Taille exon 1 : 291 nt

Taille exon 2 : 83 nt

Taille Promoteur: 34 nt

ARN LACE non épissé

ggggucucucugguuagaccagauuugagccugggagcucucuggcuaacuagggaacccacugcuuaagccuca
 auaaagcuugccuugagugcuucaaguaguguguccgucuguuugugugacucugguaacuagagaucuccucag
 acccuuuuagucaguguggaaaaucucuaagcagugggcgccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagag
 gagcucucucgacgcaggacucggcuugcugaagcgcgacggcaagaggcgaggggagggcgauggugagucacg
 ccaaaaauuuugacuagcggaggcuagaaggagagagaugggagaucuggucucucccccagguccggagugcau
 cgagaaaccagcaacggagcggcgaucgacaaaggggaggaagugggagaaacaacugugcagcgagauugcgaa
 gauggcgccggaggaacggccacaccuaaaacccuuggcacauccugcuaucauugcggaacagcuauuggcug
 uaaauugcgccacagccucggcuccuccuccuccuuauuggggagugguuuugauccuucccuggcggggguggg
 agagcagcaaaauucgaggggagucuccauagaauaggaggagaaagagauauagcacacaaguagaccucgaa
 cuagcagaccaacuaauucaucuguaauuacuuugacuguuuuucagacucugcuauaagaaaggccuuauuagga
 cauauaguuagcccuaggugugaauaucaagcaggacauaacaggguaggauucg

Taille ARN pré messenger LACE: 804 nt

Taille exon 1 : 291 nt

Taille intron : 430 nt

Taille exon 2 : 83 nt

Nombre de A : 215

Nombre de U : 171

Nombre de C : 181

Nombre de G : 237

PM ARN ss : 257 166 Da

Nombre de U ds l'ARN pré messenger DACE: 171

Nombre de U ds l'intron+exon2 : 107

Nombre de U ds l'intron : 87

ARN LACE épissé

ggggucucucugguuagaccagauuugagccuggggagcucucugggcuaacuagggaaacccacugcuuaagccuca
auaaagcuugccuugagugcuucaaguagugugugcccgucuguugugugacucugguaacuagagaucccucag
acccuuuuagucaguguggaaaaucucuagcagugggcgccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagag
gagcucucucgacgcaggacucggcuugcugaagcgcgacggcaagaggcgaggggagggcga^{cug/a}cucugcu
auaagaaaggccuuauuaggacauauaguuaagccuaggugugaauaucaagcaggacauaac^{aagguagga}uc^g

ggggucucucugguuagaccagauuugagccuggggagcucucugggcuaacuagggaaacccacugcuuaagccuca
auaaagcuugccuugagugcuucaaguagugugugcccgucuguugugugacucugguaacuagagaucccucag
acccuuuuagucaguguggaaaaucucuagcagugggcgccgaacagggacuugaaagcgaaagggaaaccagag
gagcucucucgacgcaggacucggcuugcugaagcgcgacggcaagaggcgaggggagggcga^{cuga}cucugcua
uaagaaaggccuuauuaggacauauaguuaagccuaggugugaauaucaagcaggacauaac^{aagguagga}uc^g

Taille : 374 nt

Nombre de A : 96

Nombre de C : 84

Nombre de G : 110

Nombre de U : 84 nt

PM ARN ss : 119 537