

CONCOURS G2E

BIOLOGIE

Durée : 3 heures

Les calculatrices programmables et alphanumériques ne sont pas autorisées.

L'usage de tout ouvrage de référence et de tout document est strictement interdit.

Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il en fait mention dans sa copie et poursuit sa composition. Dans ce cas, il indique clairement la raison des initiatives qu'il est amené à prendre.

Les candidats doivent respecter les notations de l'énoncé et préciser, dans chaque cas, la numérotation de la question posée.

Une grande attention sera apportée à la clarté de la rédaction et à la présentation des différents schémas.

Il n'est pas nécessaire de rédiger une introduction et une conclusion.

Les documents peuvent être découpés et collés sur la copie à condition d'être légendés, commentés ou exploités.

Attention : le sujet de biologie est composé de 2 parties indépendantes dont la numérotation est continue afin d'éviter toute confusion lors de vos réponses. Le jury vous conseille de les composer en 1h30 chacun afin de répondre à toutes les questions.

BIOLOGIE 1 (durée conseillée 1 h 30)

Remarque importante : les questions suivent une problématique progressive, le jury vous conseille donc de les aborder dans l'ordre du sujet.

**QUELQUES ASPECTS MÉTABOLIQUES ET ÉCOLOGIQUES
DES BACTÉRIES PHOTOSYNTHÉTIQUES**

Les Cyanobactéries, les bactéries pourpres sulfureuses et les bactéries pourpres non sulfureuses sont des bactéries photosynthétiques qui colonisent tous les milieux aquatiques, où elles s'organisent en strates. Toutes ces bactéries cohabitent avec des bactéries non photosynthétiques et d'autres microorganismes, que nous n'aborderons pas dans ce sujet.

1. ÉTUDE DES CYANOBACTÉRIES (4,25 points)

Les documents 1A et 1B page 7 présentent une Cyanobactérie observée au microscope électronique à transmission.

1.1. Coller et légender précisément les documents 1A et 1B.

Le document 2 page 2 donne le potentiel redox standard (E°) en Volt, de l'ensemble des acteurs impliqués dans la phase photochimique de la photosynthèse chez les Cyanobactéries, qui ressemble à celle des plantes vertes.

1.2. Placer sur une échelle verticale décroissante de potentiel redox standard, l'ensemble des acteurs du document 2 dans l'ordre fonctionnel.

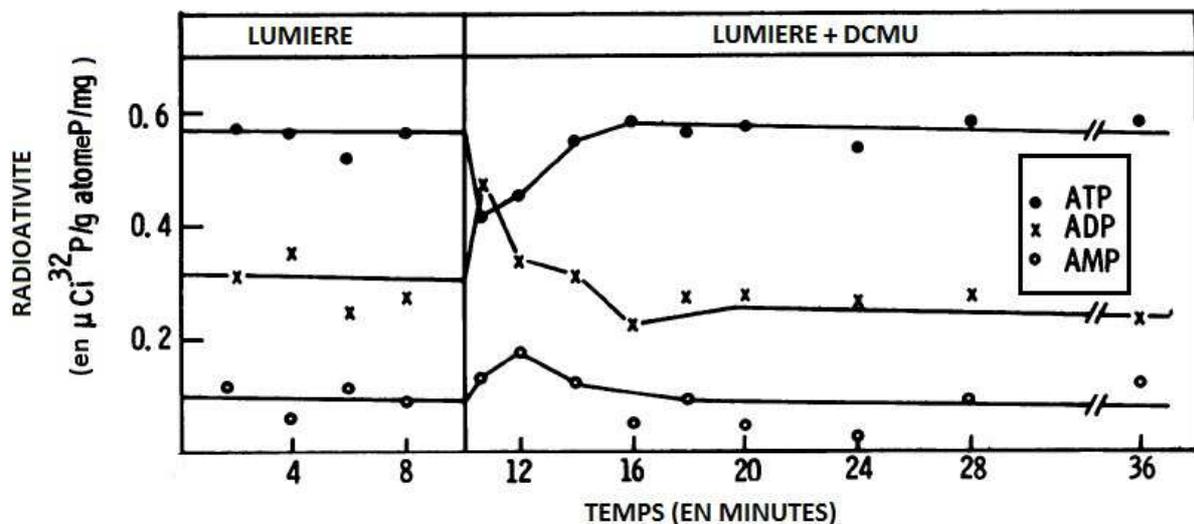
Indiquer par un trait rouge le trajet des électrons. Comment nomme-t-on le trajet obtenu ?

1.3. A l'aide de vos connaissances justifier par le calcul le placement de chaque acteur sur le schéma réalisé dans la question précédente.

Couple redox	E° (potentiel redox standard en Volt)
NAD(P)H,H ⁺ /NAD(P) ⁺	- 0.32
H ₂ O/O ₂	+ 0.81
PSII (non excité)	+ 1.10
PSII* (excité)	- 0.74
PSI (non excité)	+ 0.49
PSI* (excité)	- 1.30
PQH ₂ /PQ	+ 0.10
b ₆ f	+ 0.35
Fd _{red} /Fd _{ox}	- 0.42
PC	+ 0.37

Document 2 : Couples redox des acteurs de la phase photochimique de la photosynthèse chez les Cyanobactéries. PSII : photosystème II ; PSI : photosystème I ; PQ : plastoquinone ; b₆f : complexe b₆f ; Fd : ferrédoxine ; PC : plastocyanine.
(Construit d'après *La photosynthèse*, J. Farineau, 2011, édition Quæ)

On réalise une culture pure de Cyanobactéries en présence de 20 µCi.mL⁻¹ de ³²P*. Les nucléotides énergétiques, ATP, ADP et AMP sont extraits des Cyanobactéries, à intervalles de temps réguliers, avec 80% de méthanol, puis séparés par chromatographie sur papier et enfin comptés par autoradiographie. Le **document 3** donne le suivi de l'incorporation du ³²P* dans les trois nucléotides énergétiques à la lumière en absence puis en présence de DCMU. Le DCMU ou dichlorophényldiméthylurée est un inhibiteur du photosystème II.

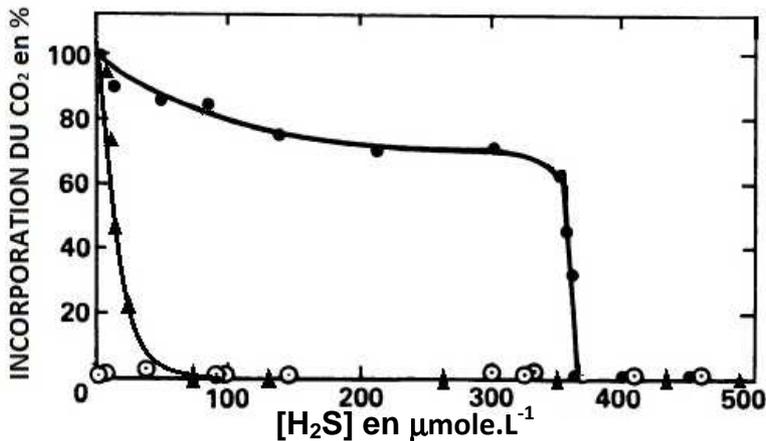


Document 3 : Suivi de l'incorporation par une Cyanobactérie de ³²P* dans les nucléotides énergétiques : l'ATP (●), l'ADP (x) et l'AMP (○).

Remarque : 1 µCi = 1 micro-curie = 3.7 10¹⁰ becquerels (D'après Pelroy RA and al., *Journal of Bacteriology*, 11: 623-632, 1976)

1.4. A l'aide de vos connaissances personnelles et du schéma réalisé dans la question 1.3, analyser précisément le document 3.

On réalise une culture d'*Anacystis nidulans*, une Cyanobactérie commune et d'*Oscillatoria sp.*, une Cyanobactérie des sources chaudes de l'Utah. On suit, pour chacune d'elles, l'incorporation du CO₂ en fonction de la concentration de sulfure d'hydrogène (H₂S), en présence et en absence de DCMU. Le **document 4 page 3** nous donne les résultats en pourcentages par rapport à l'incorporation du CO₂ sans sulfure d'hydrogène.

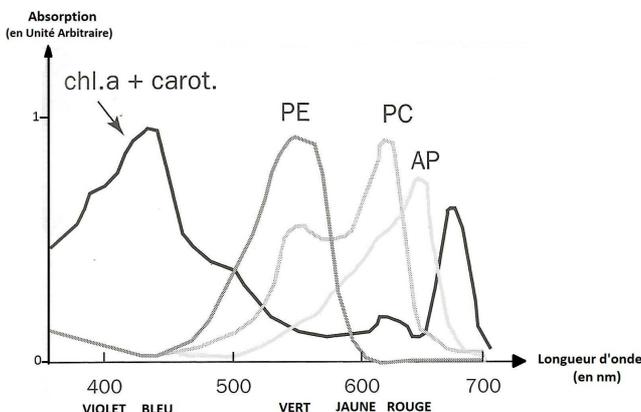


Document 4 : Suivi de l'incorporation de CO₂ en fonction de la concentration en sulfure d'hydrogène (H₂S), en absence de DCMU, par deux Cyanobactéries : *Oscillatoria* sp. (●) et *Anacystis nidulans* (▲). Et en présence de DCMU : pour les deux Cyanobactéries (⊙).
(Modifié d'après Cohen Y and al., Applied and Environmental Microbiology, 02: 398-407, 1986)

1.5. Analyser l'ensemble des résultats du document 4.

Si la photosynthèse des Cyanobactéries ressemble à celle des Spermatophytes, il existe tout de même quelques différences. Ainsi, chaque photosystème II est associé à un complexe antennaire particulier. En effet, bien qu'il assure les mêmes fonctions que les antennes collectrices des plantes vertes, ce complexe antennaire renferme des pigments spéciaux : la phycoérythrine, la phycocyanine et l'allophycocyanine.

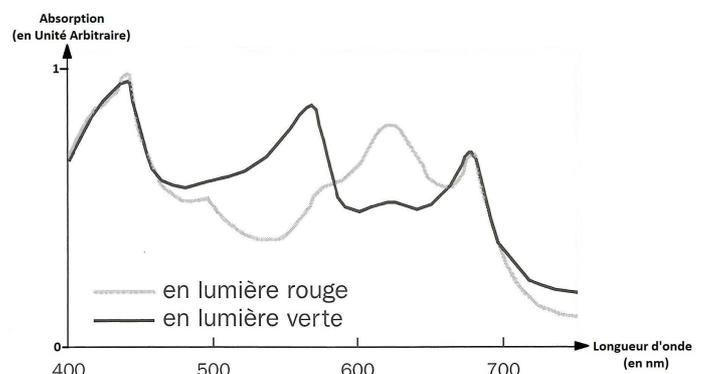
Dans le **document 5**, on réalise par spectrophotométrie deux spectres d'absorption. Le premier, **document 5A**, est obtenu après extraction des pigments photosynthétiques d'une Cyanobactérie, *Fremyella diplosiphon*, préalablement éclairée avec l'ensemble des longueurs d'onde du visible. Le second, **document 5B**, est obtenu à partir de la même Cyanobactérie, mais *in toto*, qui a été maintenue en suspension dans sa solution nutritive et éclairée avec une lumière incidente soit rouge, soit verte.



Document 5A : Spectre d'absorption des pigments d'une Cyanobactérie : *Fremyella diplosiphon*.

chl.a : chlorophylle a, carot : caroténoïdes, PE : phycoérythrine, PC : phycocyanine et AP : allophycocyanine

(Modifiés d'après Tandeau de Marsac N. and al. Bulletin de l'Institut Pasteur, 81 : 201-254, 1983 et Biodégradations et métabolismes, Pelmont J., 2005, édition EDP Sciences)



Document 5B : Spectre d'absorption d'une suspension de *Fremyella diplosiphon*.

En gris : si la suspension est éclairée avec une lumière rouge

En noir : si la suspension est éclairée avec une lumière verte

1.6. Chez les Spermatophytes, quels pigments photosynthétiques les antennes collectrices renferment-elles ? Quels rôles assurent-ils ?

1.7. Analyser chaque spectre du document 5. Pourquoi dit-on que les Cyanobactéries sont capables d'adaptation chromatique ?

2. ÉTUDE DES BACTÉRIES POURPRES NON SULFUREUSES (3,75 points)

Les bactéries pourpres non sulfureuses sont, comme les Cyanobactéries, des organismes photosynthétiques, mais leurs pigments photosynthétiques sont regroupés en un photosystème unique appelé P870. Ainsi, elles ne renferment pas de photosystème II.

P870 a donc un rôle comparable au photosystème I des Cyanobactéries, mais la chlorophylle a est remplacée par la bactériochlorophylle a ou b et elle est associée à de nombreux caroténoïdes rouges et jaunes, qui sont à l'origine de la couleur pourpre.

2.1. Pourquoi la photosynthèse des bactéries pourpres non sulfureuses est-elle qualifiée de photosynthèse anoxygénique ?

On cultive une bactérie pourpre non sulfureuse, *Rhodospseudomonas sp.*, sous trois intensités de lumière incidente. Dans ces trois cultures, les conditions d'oxygénation sont identiques et moyennes. Au même moment, on prélève dans chaque culture la même quantité de bactéries. Une partie de ce prélèvement est observée au microscope électronique à transmission, alors que dans l'autre partie, on mesure la quantité de bactériochlorophylle a. L'ensemble des résultats est présenté dans le **document 6 page 7 et le document 7 ci-dessous**.

Intensité de la lumière incidente ($W.m^{-2}$)	Nombre de vésicules « intracellulaires » (nombre/ μm^2 de membrane plasmique)	[Bactériochlorophylle a] ($\mu g/mg$ de protéine totale)
3	21.5 \pm 4.2	9.1
10	11.1 \pm 2.5	4.6
100	6.5 \pm 1.9	2.9

Document 7 : Nombre de vésicules « intracellulaires » et quantité de bactériochlorophylle a dans trois cultures de *Rhodospseudomonas sp.* éclairées par une lumière incidente de 3 $W.m^{-2}$, 10 $W.m^{-2}$ ou 100 $W.m^{-2}$. (Modifié d'après Kiley PJ and Kaplan S, *Microbiological Reviews*, 03: 50-69, 1988)

2.2. Analyser l'ensemble des résultats des documents 6 et 7. Quel(s) rôle(s) la lumière semble-t-elle avoir sur les vésicules « intracellulaires » et sur P870 ?

On cultive cette fois à l'obscurité, une bactérie pourpre non sulfureuse, *Rhodospseudomonas sp.*. Après une culture pendant plusieurs heures sous une pression partielle d' O_2 élevée ($P_{O_2} = 130$ mmHg), la culture est placée sous trois pressions partielles d' O_2 plus faibles ($P_{O_2} = 5, 2$ ou 1 mmHg). On mesure, dans chacune des trois cultures, la quantité de bactériochlorophylle a, le constituant essentiel du photosystème P870. L'ensemble des résultats est présenté dans le **document 8 ci-dessous**.

P_{O_2} (en mmHg)	Temps après abaissement P_{O_2} (en minutes)	[Bactériochlorophylle a] (en $\mu g/mg$ de protéine totale)	[Bactériochlorophylle a] (nmole/mg de protéine membranaire)
5	0	0.41	2.2
	60	0.55	3.8
	210	1.47	7.8
2	230	3.20	9.4
1	239	4.50	14.4

Document 8 : Quantité de bactériochlorophylle a dans trois cultures de *Rhodospseudomonas sp.* placées à l'obscurité sous trois pressions partielles de dioxygène : $P_{O_2} = 5$ mmHg, $P_{O_2} = 2$ mmHg et $P_{O_2} = 1$ mmHg. (1 mmHg = 133,322 Pa). (Modifié d'après Firsow N and Drews G, *Archives of Microbiology*, 115: 299-306, 1977)

2.3. Analyser l'ensemble des résultats du document 8. Quel(s) rôle(s) le dioxygène semble-t-il avoir sur la bactériochlorophylle a ?

2.4. Confronter les résultats des documents 6, 7 et 8. Conclure sur le(s) rôle(s) de la lumière et du dioxygène chez les bactéries pourpres non sulfureuses.

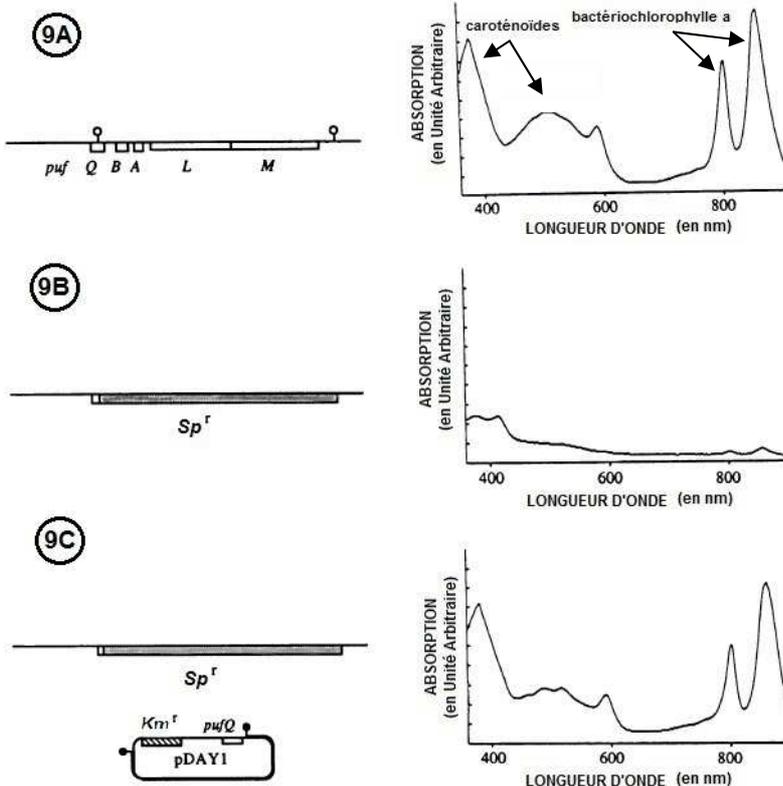
On a mis en évidence, chez les bactéries pourpres non sulfureuses, que les gènes codant pour certains des constituants du photosystème P870 sont regroupés en un opéron appelé *puf*. Il comporte au moins cinq gènes *Q*, *B*, *A*, *L* et *M*.

2.5. Qu'est-ce qu'un opéron ? Donner un exemple d'opéron chez *Escherichia coli* et son principe de régulation en cinq lignes maximum.

On souhaite préciser le rôle du gène *Q* dans le photosystème P870. Pour cela, on réalise par spectrophotométrie le spectre d'absorption d'une bactérie pourpre non sulfureuse, *Rhodospseudomonas sp.* de type sauvage (**document 9-A ci-dessous**).

Dans une seconde expérience, on construit une souche recombinée de *Rhodospseudomonas sp.* en remplaçant l'ensemble des gènes *Q*, *B*, *A*, *L* et *M* par le gène *Sp^r* qui code pour la résistance à un antibiotique : la spectinomycine. Pour cela on utilise une enzyme de restriction *Apa 1* dont deux séquences cibles sont présentes dans l'opéron. On réalise ensuite par spectrophotométrie, le spectre d'absorption de cette bactérie pourpre non sulfureuse, *Rhodospseudomonas sp.* recombinée (**document 9-B ci-dessous**).

Dans une troisième expérience, on construit un plasmide recombiné *pDAY1* renfermant les gènes *Km^r* et *pufQ*. Le gène *Km^r* code pour la résistance à un antibiotique : la kanamycine. Le gène *pufQ* est le gène *Q* de l'opéron *puf*. Le plasmide recombiné *pDAY1* est alors introduit dans *Rhodospseudomonas sp.* recombinée du document 9-B. On réalise ensuite par spectrophotométrie, le spectre d'absorption de cette bactérie ayant incorporée le plasmide (**document 9-C ci-dessous**).



Document 9 : Opéron *puf* et spectre d'absorption

9-A De *Rhodospseudomonas sp.* de type sauvage

9-B De *Rhodospseudomonas sp.* recombinée

9-C De *Rhodospseudomonas sp.* recombinée ayant incorporé le plasmide *pDAY1* représenté

● : Site de reconnaissance de *EcoR1*

◻ : Site de reconnaissance de *Apa1*

(Modifié d'après Bauer CE. and Marrs BL, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85: 7074-7078, 1988)

2.6. Qu'est-ce qu'une enzyme de restriction ? Quel est son rôle dans la construction de la bactérie *Rhodospseudomonas sp.* recombinée ?

2.7. Qu'est-ce qu'un plasmide ? Comment peut-on l'introduire dans la bactérie *Rhodospseudomonas sp.* recombinée lors de la dernière expérience ?

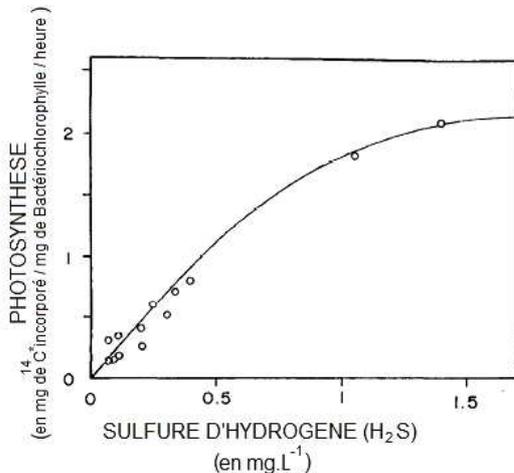
2.8. Quel est le rôle des gènes de résistance à un antibiotique dans les deux dernières expériences ?

2.9. Analyser l'ensemble des résultats du document 9. En déduire le rôle du gène *Q*.

3. ETUDE DES BACTERIES POURPRES SULFUREUSES (2 points)

Les bactéries pourpres sulfureuses réalisent, comme les bactéries pourpres non sulfureuses, une photosynthèse anoxygénique. Leurs pigments photosynthétiques sont très proches et ils sont également regroupés en un photosystème unique.

On suit quantitativement la photosynthèse d'une bactérie pourpre sulfureuse, *Chromatium sp.*, en fonction de la concentration en sulfure d'hydrogène (H_2S). Le résultat de ce suivi est donné par le **document 10 ci-dessous**.



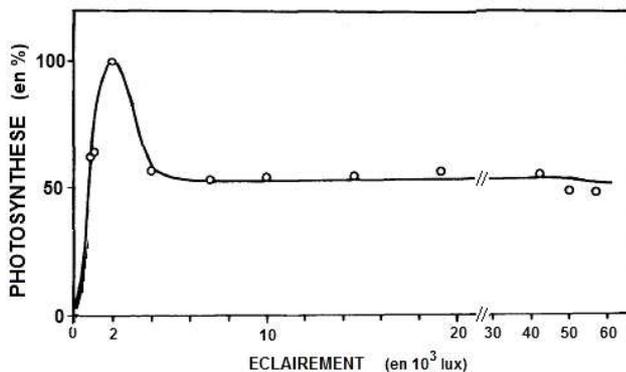
Document 10 : Relation entre la photosynthèse et la concentration en sulfure d'hydrogène (H_2S) chez une bactérie pourpre sulfureuse *Chromatium sp.*

(Modifié d'après Takahushi M. and Ichimura SE. *Limnology and Oceanography*, 15: 929-940, 1970)

3.1. Analyser le document 10 A. A l'aide de cette analyse et de vos connaissances personnelles, en déduire le rôle du sulfure d'hydrogène (H_2S) dans la photosynthèse chez les bactéries pourpres sulfureuses ?

On suit maintenant la photosynthèse de la même bactérie pourpre sulfureuse, *Chromatium sp.*, en fonction de l'éclairement. Le résultat est donné par le **document 11 ci-dessous**. Le graphe du **document 12 ci-dessous** nous renseigne sur le pourcentage de lumière transmise au fur et à mesure que celle-ci pénètre dans l'eau dans un lac.

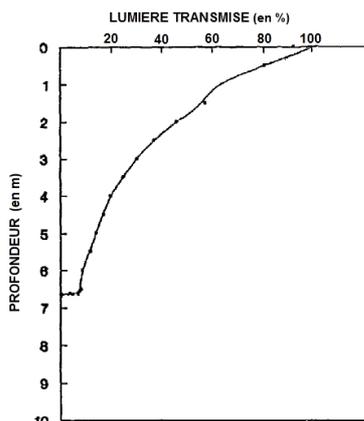
3.2. Confronter les documents 11 et 12. Que peut-on en déduire sur la zone de vie privilégiée des bactéries pourpres sulfureuses ?



Document 11 : Relation entre la photosynthèse et l'éclairement fourni à une bactérie pourpre sulfureuse *Chromatium sp.*

Remarque : on considère que la surface d'un lac en plein soleil d'été reçoit $100 \cdot 10^3$ lux.

(Modifié d'après Takahushi M. and Ichimura SE. *Limnology and Oceanography*, 15: 929-940, 1970)



Document 12 : Pourcentage de lumière transmise au fur et à mesure en fonction de la profondeur d'eau.

Remarque : on considère que la surface d'un lac en plein soleil d'été reçoit $100 \cdot 10^3$ lux.

Valeurs obtenues à partir de l'étude d'un lac « modèle » en Colombie Britannique (ouest du Canada)

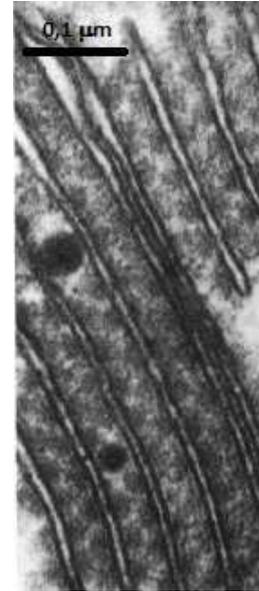
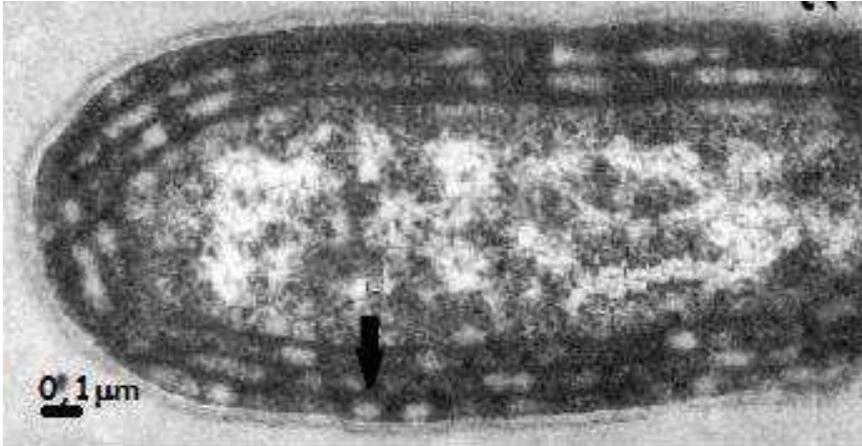
(Modifié d'après Overmann J. and al, *Limnology and Oceanography*, 36: 846-859, 1991)

BIOLOGIE 1

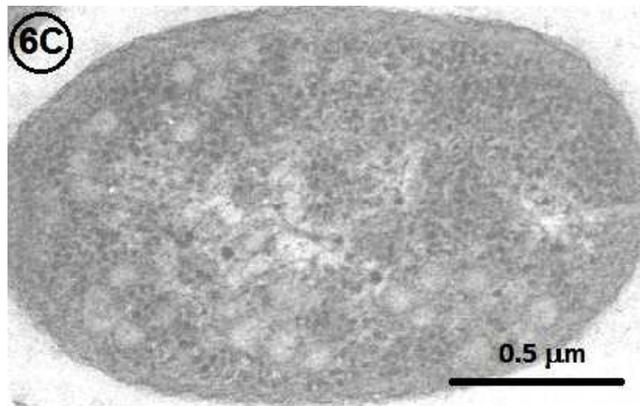
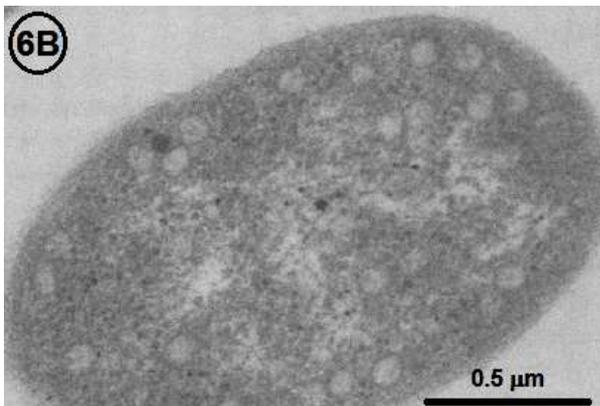
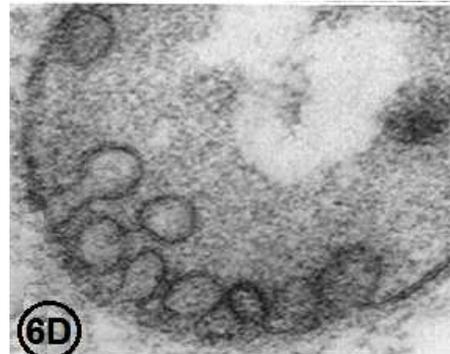
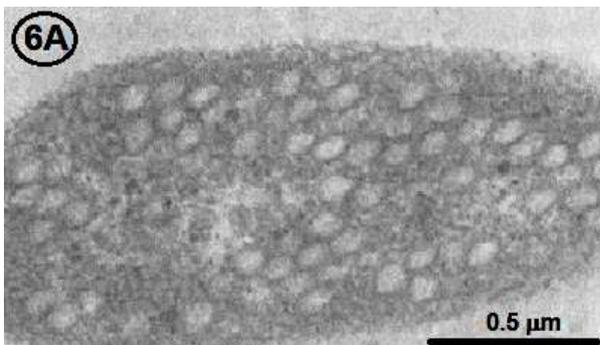
Document 1 : Observation au microscope électronique à transmission d'une Cyanobactérie
(Modifié d'après Wildman R.B. and Bowen C.C. , *Journal of Bacteriology*, vol.117 : 866-881, 1974)

1A : La zone pointée par la flèche est observée document 1B.

1B : Détail de 1A



Document 6 : Observation au microscope électronique à transmission de trois cultures de *Rhodospseudomonas* sp. éclairées par une lumière incidente de 6A : 3 W.m⁻², 6B : 10 W.m⁻² et 6C : 100 W.m⁻². 6D : Détail des vésicules « intracellulaires » x 110 000.
(Modifié d'après Kiley PJ and Kaplan S, *Microbiological Reviews*, 03: 50-69, 1988)



Page vide

BIOLOGIE 2 (durée conseillée : 1h30)

Les 3 parties du sujet sont totalement indépendantes.

ORIGINES ET CONSEQUENCES DES MUTATIONS : ETUDE D'EXEMPLES

Partie 4 - Origines moléculaires des mutations (2,5 points)

Alors qu'ils représentent plus de 90 % du rayonnement UV qui atteint la surface de la Terre, les éventuels effets des UVA sur l'ADN sont bien moins connus que ceux des UVB (et C).

On cherche à révéler et quantifier d'éventuelles lésions provoquées par les UVA sur des fragments d'ADN quelconques. Pour cela, l'anticorps anti-CPD est utilisé pour sa capacité à repérer spécifiquement et ainsi quantifier les dimères cyclobutylthymines (CPD, ou dimères de thymines) : les anticorps anti-CPD se fixent spécifiquement sur les dimères de thymines de l'ADN.

Question 4 : En comparant les images A et B de la figure 13, mettez en évidence un premier effet des UVA sur l'ADN.

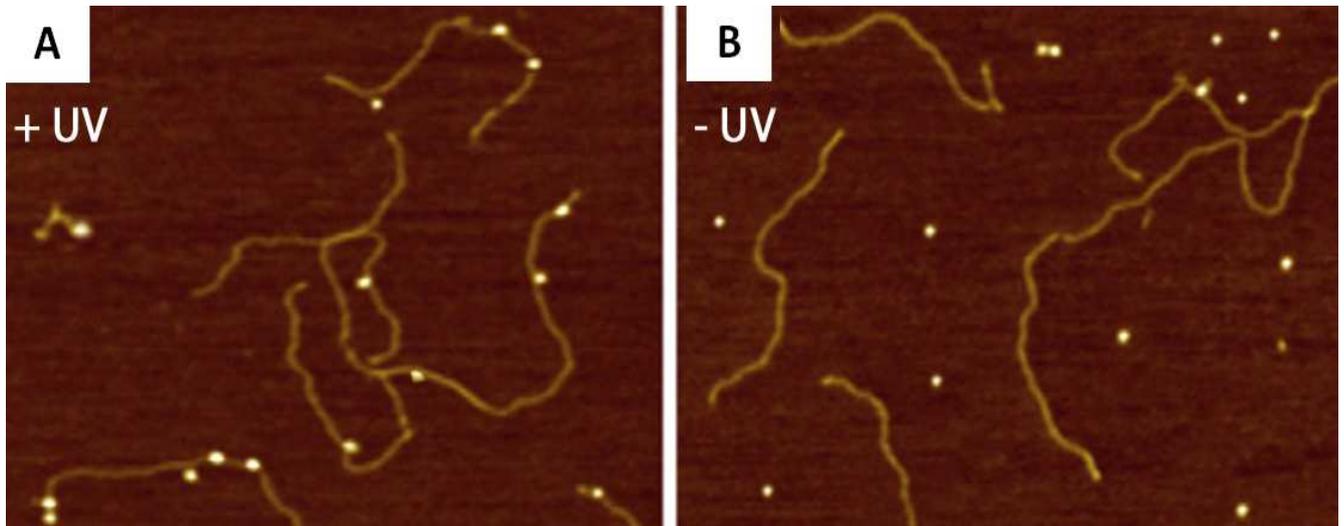


Figure 13 : Fragments d'ADN purifiés et incubés en présence d'anticorps anti-CPD. A gauche (A), des fragments purifiés d'ADN (vierges de toute protéine cellulaire) ont été exposés aux UVA (6 MJ.m^{-2}), puis incubés avec les anticorps anti-CPD. A droite (B), des fragments identiques d'ADN, également purifiés mais non exposés aux UVA, ont été incubés avec la même quantité d'anticorps anti-CPD. Aucun lavage n'est réalisé entre l'incubation et l'observation des résultats. Dans la technique d'imagerie utilisée, l'ADN apparaît sous forme de filaments fins et les anticorps sous forme de petits spots globulaires et lumineux. Chaque image représente un secteur de $1 \mu\text{m}^2$.

D'autres effets des UVA sur l'ADN sont recherchés. La même expérience est reproduite et quantifiée, mais en utilisant en parallèle l'enzyme T4 endonucléase V (notée T4-EN-V). Cette enzyme est utilisée pour sa capacité à se fixer sur l'ADN, à la fois au niveau des dimères de thymines et des sites apuriques (sites formés suite à une dépurination), avec une haute spécificité mais sans discernement entre ces deux types de lésions (figure 14a). Enfin, des plasmides bactériens purifiés et exposés ou non aux UVA sont observés pour tester l'influence des UVA sur la topologie de l'ADN (figure 14b).

Figure 14a : Fixation des enzymes T4-EN-V ou des anticorps anti-CPD sur de l'ADN purifié, exposé ou non aux UVA

Des fragments identiques d'ADN sont purifiés, exposés ou non aux UVA (1 MJ.m^{-2}) puis incubés en présence de T4-EN-V ou de l'anticorps anti-CPD.

Les résultats sont exprimés en nombre de molécules (enzymes T4-EN-V ou anticorps anti-CPD) fixées sur l'ADN par millions de paires de bases, et sous forme de moyennes accompagnées des écarts types, après plusieurs expériences.

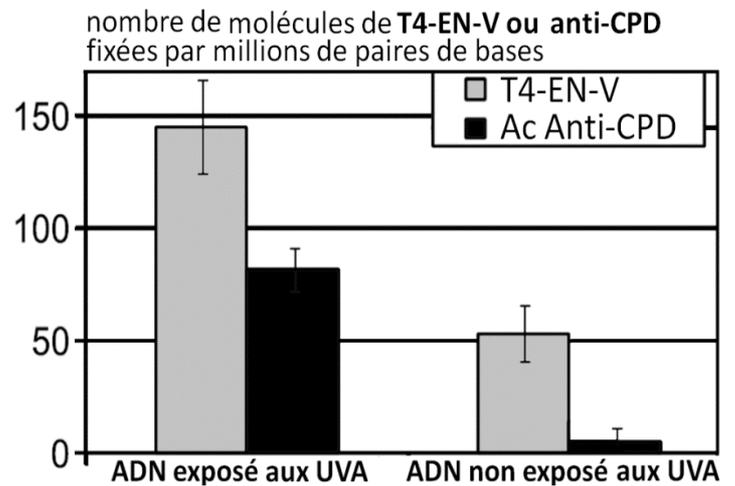
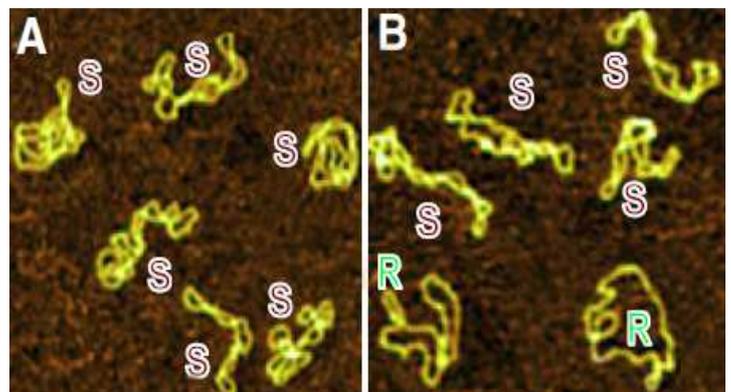


Figure 14b : Effet des UVA sur la topologie de l'ADN

A : Plasmides circulaires bactériens purifiés
B : Plasmides circulaires bactériens purifiés et exposés aux UVA (1 MJ.m^{-2} , 8h)

Les plasmides se présentent sous deux états, notés S et R dans la figure.

A et **B** : Les images représentent un secteur de $0,5 \times 0,5 \mu\text{m}^2$ et ont été choisies pour être représentatives de l'ensemble des résultats de l'expérience.



Question 5 :

5a. A l'aide de la figure 14a, mettez en évidence un autre effet des UVA sur l'ADN. Discutez des origines des deux lésions mises en évidence.

5b. Interprétez la figure 14b pour mettre en évidence un troisième effet des UVA sur l'ADN.

Partie 5 - Conséquences des mutations à l'échelle cellulaire (2,5 points)
(modèle : kératinocytes humains)

Pour rechercher d'éventuelles conséquences des lésions de l'ADN à l'échelle cellulaire chez l'Homme, une batterie de tests est réalisée sur une culture *in vitro*, à faible densité cellulaire, de kératinocytes (cellules de l'épiderme) humains. Ceux-ci sont préalablement exposés à un rayonnement UVA. On quantifie ensuite le nombre de dimères de thymines (figure 15a), la capacité de prolifération (figure 15b) et le pourcentage de cellules dans telle ou telle phase du cycle cellulaire (tableau 15c).

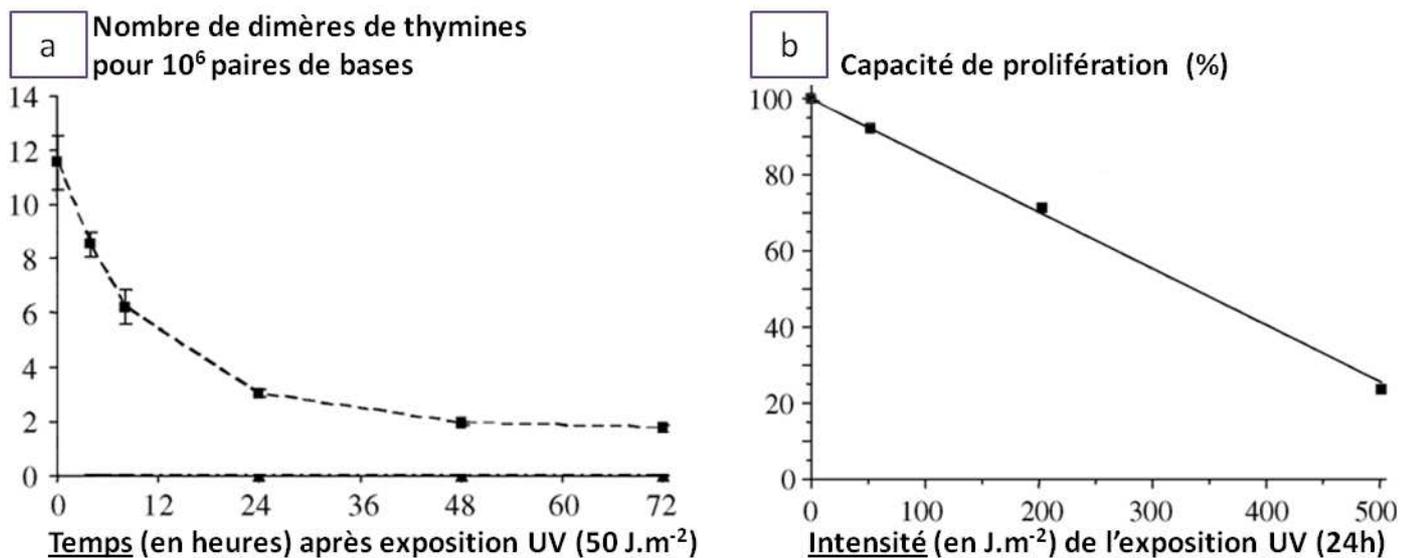


Tableau 15c	G1 (%)	G2 + S + M (%)	SubG1* (%)
Témoin	49	50	1
+ UVA (500 J.m^{-2} , 24h)	55	30	15

Figure 15. Réponses des kératinocytes humains cultivés *in vitro* à faible densité suite à une exposition aux UVA. **a** : Les dimères de thymines dans l'ADN sont quantifiés au cours du temps après l'arrêt de l'exposition aux UVA (moyenne de 3 expériences, les barres d'erreur à peine visibles sont les écarts-types). **b** : Capacité de prolifération des kératinocytes 24 heures après exposition aux UVA à intensités variables. **c** : Répartition en % des populations cellulaires dans les différentes étapes du cycle cellulaire, pour une culture cellulaire non exposée aux UV (Témoin) et pour une culture cellulaire préalablement exposée aux UVA (+ UVA). Les résultats sont des moyennes de plusieurs expériences. **b** et **c** : les écarts-types, systématiquement inférieurs à 1%, ne sont pas indiqués.

* Les cellules en phase SubG1 sont caractérisées par une quantité d'ADN anormalement plus faible que les cellules en phase G1.

Question 6 : Rappelez, sous la forme d'un graphe présentant les variations de la quantité d'ADN par cellule au cours du temps, les étapes du cycle cellulaire dans le cas d'une cellule eucaryote somatique diploïde (les indications de la durée des étapes du cycle cellulaire ne sont pas attendues).

Question 7 :

7a. Quelle activité moléculaire est mise en évidence par le graphe a de la figure 15 ?

7b. Interprétez les résultats reportés dans le graphe b et le tableau c de la figure 15.

7c. Sachant que la durée du cycle cellulaire d'un kératinocyte humain cultivé *in vitro* dans ces conditions, sans exposition aux UV, est de l'ordre de 16 heures, estimez d'après les données du tableau c de la figure 15 la durée de la phase G1 dans ces cellules.

Partie 6 - Conséquences des mutations à l'échelle du développement des organismes : quelques exemples (5 points)

On cherche à révéler les effets d'une mutation inactivant totalement un gène codant une N-cadhérine chez le poisson zèbre. Chez ces embryons mutants, la synthèse de cette N-cadhérine est abolie. Les effets sont recherchés en comparant les embryons sauvages et mutants, en vue externe (figure 16) et en coupe un peu plus tardivement au microscope à fluorescence (figure 17). *Les étapes du développement embryonnaire sont les mêmes chez le poisson zèbre et l'amphibien, mais les mécanismes cellulaires peuvent varier.*

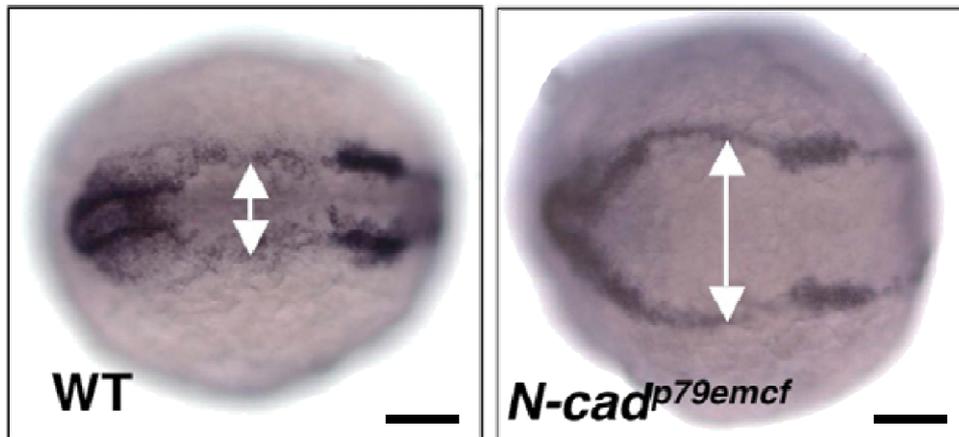


Figure 16 : Conséquences d'une mutation non-sens affectant la séquence codante d'un gène codant une N-cadhérine chez le poisson zèbre. Les embryons sont observés en vue dorsale externe, pôle antérieur à gauche (la coloration sombre résulte d'une hybridation *in situ* quelconque pour mieux voir les différences). WT : embryon sauvage. *N-cad^{p79emcf}* : embryon mutant pour un gène codant une N-cadhérine au même stade de développement embryonnaire (barre d'échelle : 150 μ m).

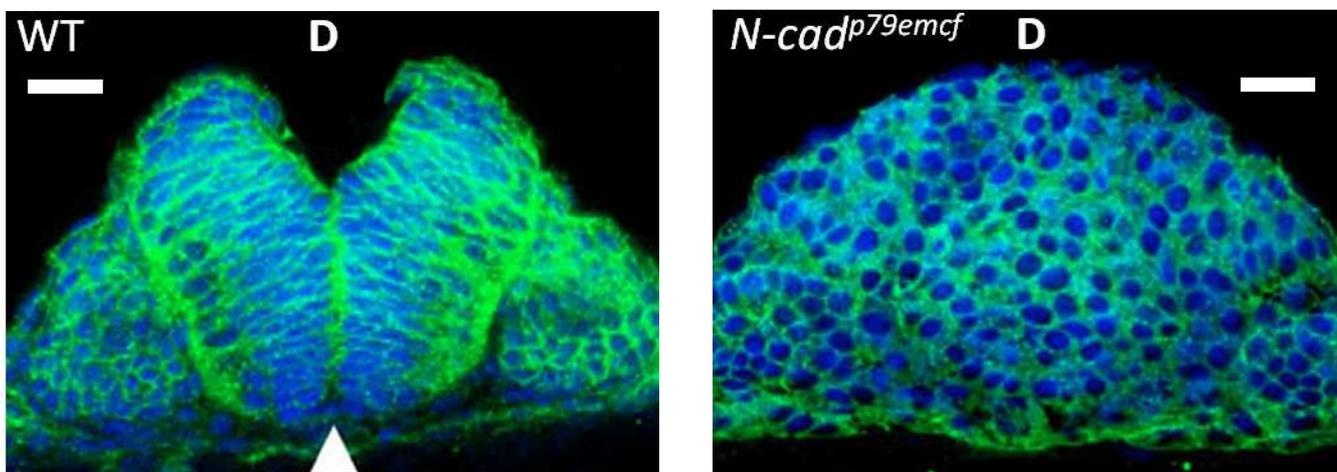


Figure 17 : Coupes transversales dans la région dorsale d'embryons sauvage (WT, image de gauche) et mutant pour le gène codant la N-Cadhérine (*N-cad^{p79emcf}*, image de droite), observées au microscope à fluorescence. Signal bleu = DAPI, permettant de visualiser les noyaux ; signaux verts = complexes d'adhérence intercellulaire divers. D = Dos. Barres d'échelle (traits blancs) : 20 μ m.

Question 8 :

8a. D'après les figures 16 et 17, quelles sont les conséquences visibles et prévisibles de la mutation du gène codant la N-cadhérine dans le déroulement du développement embryonnaire du poisson zèbre ? Quels phénotypes et comportements cellulaires reconnaissez-vous chez l'embryon sauvage (figure 17, image de gauche) ? Déduisez, d'après les figures 16 et 17, le rôle précis de la N-cadhérine à ce stade du développement embryonnaire chez le poisson zèbre.

8b. En utilisant vos connaissances, réalisez un grand schéma orienté, richement légendé et soigné, représentant un embryon d'amphibien vu en coupe transversale complète, correspondant au stade représenté par l'image de gauche (WT) de la figure 16 chez le poisson zèbre.

8c. Signalez quelques différences dans les mécanismes cellulaires mis à l'œuvre chez l'amphibien et chez le poisson zèbre, à ce stade de développement.

Une démarche comparable est réalisée chez une plante. Dans des embryons de l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*, des chercheurs ont inactivé par mutagenèse le gène *RopGEF7*, qui code une protéine G. Chez ces mutants, la synthèse de cette protéine G est totalement abolie et on espère ainsi révéler son rôle. Des observations au microscope photonique après colorations sont réalisées, pour rechercher chez ces plantules mutantes les conséquences phénotypiques de cette inactivation ciblée.

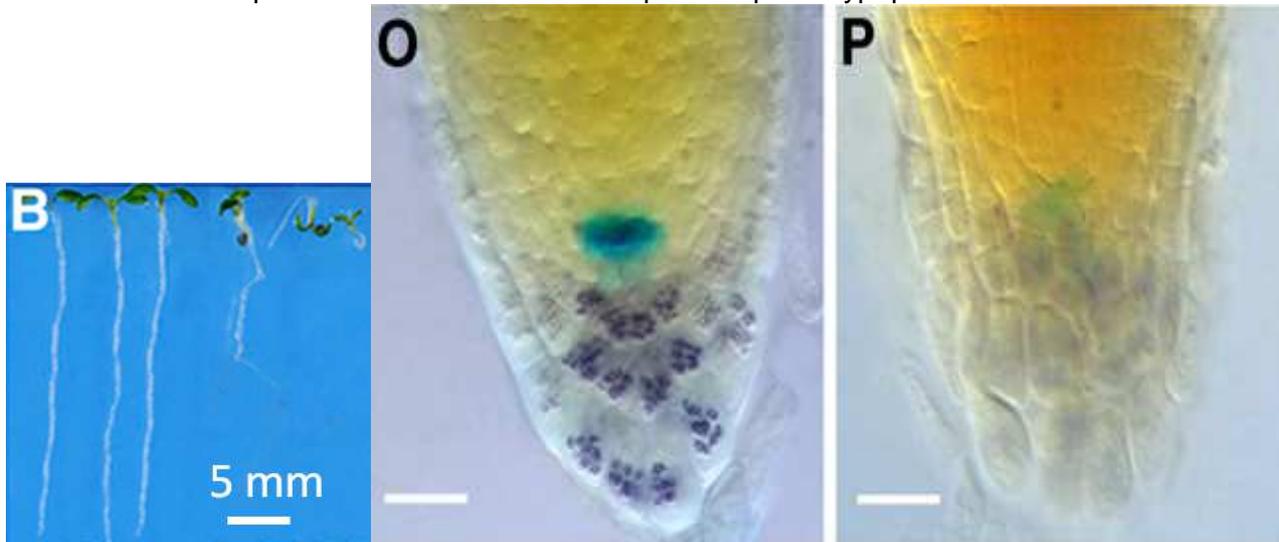


Figure 18 : Conséquence d'une mutation non-sens affectant la séquence codante du gène *RopGEF7* chez *Arabidopsis thaliana*. B : De gauche à droite, 3 plantules sauvages et 3 plantules mutantes 5 jours après germination dans les mêmes conditions. O et P : Organisation de l'apex racinaire d'une plantule sauvage (O) et d'une plantule mutante (P). Une double coloration est réalisée dans chaque type d'apex : coloration au iodure d'iode (aussi appelé eau iodée ou Lugol), et coloration GUS (signal bleu turquoise) rapportant l'activité d'un marqueur moléculaire connu pour être totalement spécifique des cellules du centre quiescent (barres d'échelle : 20 µm).

Question 9

9a. Découpez, collez dans votre copie et légendez très précisément la photographie O de la figure 18 (relative à la plantule sauvage). Une production riche en informations et soignée est attendue.

9b. Interprétez le résultat de la coloration GUS chez le mutant ; quelles conséquences sur le développement de l'appareil racinaire sont à prévoir chez les plantules mutantes ?

9c. Interprétez le résultat de la coloration à l'iodure d'iode chez le mutant ; quelles conséquences sur le développement de l'appareil racinaire sont à prévoir chez les plantules mutantes ?

9d. Proposez un rôle pour le gène *RopGEF7* (ou pour la protéine qu'il code).

9e. Citez, sans développer, une autre mutation célèbre affectant un gène impliqué dans le développement post-embryonnaire des Angiospermes et le phénotype qui en résulte.

BIBLIOGRAPHIE

Parties 4 et 5 :

Jiang, Y. et al. 2009. UVA generates pyrimidine dimers in DNA directly. *Biophysical J.* **96**, 1151–1158

Courdavault, S. et al. 2005. Repair of the three main types of bipyrimidine DNA photoproducts in human keratinocytes exposed to UVB and UVA radiations. *DNA Repair* **4**, 836–844

Douki, T. et al. 2011. Comment l'ADN réagit sous le soleil. *Pour la Science* **406**, 44-51

Partie 6 :

Hong, E. and Brewster, R. 2006. N-cadherin is required for the polarized cell behaviors that drive neurulation in the zebrafish. *Development* **133**, 3895-3905.

Chen, M. et. al. 2011. *RopGEF7* Regulates PLETHORA-Dependent Maintenance of the Root Stem Cell Niche in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **23**, 2880–2894