

EXAMEN de 1^{ère} session 2012-2013

Exercice 1 (sur 3,5 points) : Restitution de connaissances. (durée conseillée : 20 min.)

Question 1 : Répondre par OUI ou par NON à chacune des affirmations suivantes et justifier à chaque fois votre réponse.
Les mitochondries et les chloroplastes sont des organites semi-autonomes.
Les parois végétales et les parois bactériennes ont des compositions biochimiques identiques.
Tous les ARN peuvent être traduits en protéines.

Question 2 : Définir chacun des termes suivants : Photosystème, nucléosome, maturation d'un pré-ARNm eucaryote, complexe CDK-cycline.

Exercice 2 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Les cellules épithéliales de branchies de mollusques lamelibranches tels que la moule sont ciliées. Les battements des cils de ces cellules créent une circulation d'eau de mer indispensable à la vie de ces lamelibranches.

Question 1 : Schématiser la coupe transversale de l'axonème d'un cil. (réponse sur la copie)

Question 2 : Quel est le rôle de la dynéine ciliaire dans le mécanisme de battement des cils ? (réponse sur la copie)

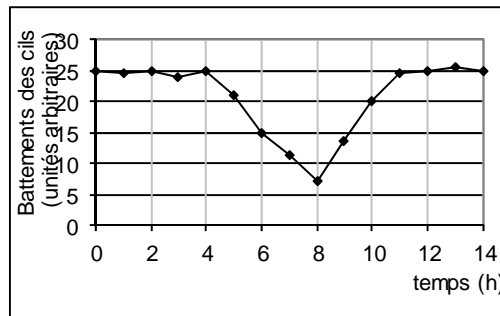
La capacité de battement des cils de cellules ciliées de filaments branchiaux a été évaluée dans différentes conditions physiologiques :

De 0 à 4h – concentration de glucose physiologique et taux d'O₂ stable,

De 4h à 8h – concentration de glucose physiologique mais O₂ non renouvelée,

A 8h – addition d'ATP exogène.

Les résultats obtenus sont ci-contre :



Question 3 : Schématiser les étapes se produisant entre la dégradation du glucose et le battement des cils après synthèse d'ATP (le détail de la chaîne respiratoire n'est pas demandé, mais les compartiments cellulaires doivent être bien précisés).

Question 4 : Commenter le graphe obtenu entre 0 et 8h : expliquer les relations entre la présence de glucose, la présence d'O₂ et les battements des cils.

Exercice 3 (sur 4,5 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Des cellules animales d'une même lignée cellulaire sont mises en culture dans des boîtes de Petri, au fond desquelles elles adhèrent rapidement. La durée du cycle cellulaire de ces cellules est de 24 heures.

On marque un échantillon A de cette culture pendant un temps bref par de la thymidine tritiée (thymidine ³H). Après lavage et autoradiographie, on constate que 25 % des cellules présentent des grains d'argent.

Question 1 : Quelles sont les molécules susceptibles d'être marquées par la thymidine tritiée ?

Question 2 : Quelle est la phase du cycle correspondant aux cellules marquées ?

Sur un échantillon B de cette même culture, on ajoute en continu de la thymidine ³H au milieu de culture à partir de t₀. A différents temps, des cellules sont prélevées, lavées, fixées et autoradiographiées.

L'observation des autoradiographies montre que les premiers chromosomes mitotiques marqués radioactivement apparaissent dès t₀ + 5h.

Question 3 : A quel stade du cycle cellulaire les cellules dont les chromosomes mitotiques marqués apparaissent à t₀ + 5h se trouvaient-elles à t₀? Quelle est la phase dont vous pouvez déduire la durée ? Que vaut cette durée ?

Question 4 : Sachant que la durée de la phase M est 6 fois plus courte que celle de la réplication, calculer les durées des différentes phases du cycle cellulaire de ces cellules (justifier vos calculs).

Question 5 : Quelle devrait être la durée minimale de l'ajout de thymidine ³H pour que toutes les cellules soient marquées radioactivement ? (justifier votre réponse).

Exercice 4 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Soit le fragment d'ADN :

Brin 1 : 5' GGAATCCGTACGAACTATAGATGTGAGGCAGTATTATACTTATCAAAGTCCGGAAGATAGCGCATAGGGTAGATT-3'
Brin 2 : 3' CGTTAGGCATGCTTGATATCTACACTCCGTCATAATATGAATAGTTTCAGGCCTTCTATCGCGTATCCCATCTAA-5'

Question 1 : Sachant qu'un seul peptide est synthétisé, identifier le brin d'ADN transcrit, ainsi que le nombre d'acides aminés du peptide obtenu.

Données : codon d'initiation : AUG ; codons stop : UAA, UAG ou UGA.

Question 2 : Quel est l'anticodon (orienté) de l'acide aminé C-terminal ?

Question 3 : Quelle est la séquence (orientée) du brin d'ADN qui sera synthétisé à partir du brin 1 d'ADN, en présence d'ADN polymérase, de l'amorce 5'TTCGT 3' (à positionner) et des 4 désoxyribonucléotides ?

Question 4 : On a identifié par ailleurs un gène codant eucaryote de 14,4 kb. La taille du cadre ouvert de lecture de l'ARNm (en b) correspond à 5 % de celle du gène (en kb). Citer les 3 mécanismes d'expression génétique majeurs qui expliquent ce phénomène.

Quel sera le nombre d'acides aminés de la protéine traduite à partir de ce gène ?

Exercice 5 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

On étudie une protéine membranaire P1, localisée au niveau de la membrane plasmique de cellules C. Cette protéine contient un domaine hydrophobe. Après traitement des cellules C soit par des protéases (sans perméabilisation), soit par des glycosidases, et analyse de la protéine P1 par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS, on constate que P1 est sensible aux glycosidases et qu'elle est partiellement dégradée par les protéases.

Question 1 : Quelles sont les 2 localisations membranaires possibles de P1 ?

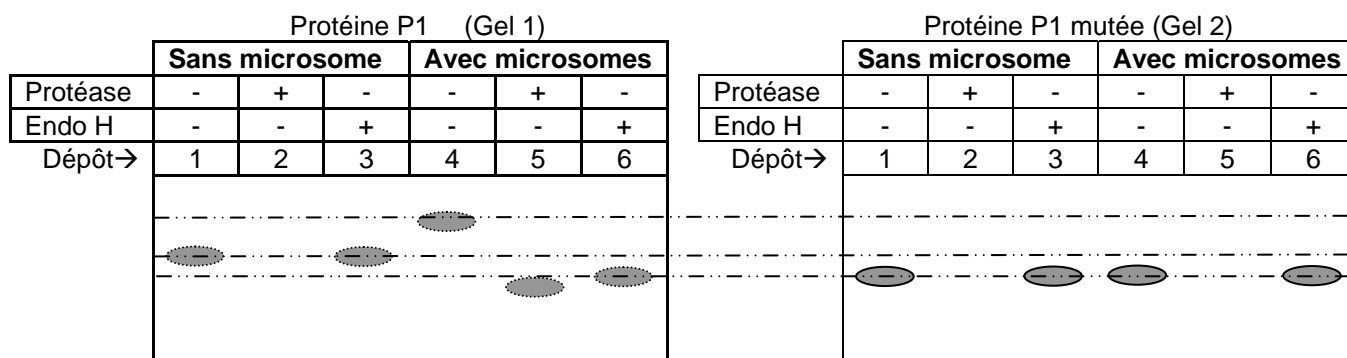
Question 2 : Quel est le type de routage initial de cette protéine ?

On a purifié l'ARNm de la protéine P1 d'une part et l'ARNm d'une protéine P1 mutée d'autre part.

Les synthèses de ces 2 protéines sont effectuées séparément dans un système de traduction *in vitro*, en présence d'oses et éventuellement de microsomes rugueux.

A la fin de la traduction (environ 20 minutes), des échantillons identiques sont préparés et soumis à différents traitements : protéases ou, après rupture des microsomes, endo H (endoglycosydases H). On analyse les résultats par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS.

Question 3 : Citer un exemple de système de traduction *in vitro* et donner sa composition.



Question 4 : Commenter en 10 lignes maximum les résultats obtenus pour la protéine P1 (gel 1) (réponse sur la copie).

Question 5 : Ces résultats vous permettent-ils de trancher pour la localisation membranaire de P1 ? Schématiser l'organisation de P1 au niveau de la membrane plasmique (à orienter).

Question 6 : La séquence de la protéine P1 mutée diffère de celle de P1 par l'absence d'une quinzaine d'acides aminés côté N-terminal. D'après les résultats du gel 2, quelle est la conséquence de cette mutation sur le routage de la protéine P1 mutée ?

EXAMEN de 1^{ère} session 2013-2014

Exercice 1 (sur 3 points) : Restitution de connaissances. (durée conseillée : 20 min.)

Question 1 : Répondre par OUI ou par NON à chacune des affirmations suivantes et justifier à chaque fois votre réponse. Les ARNm sont les ARN les plus abondants parmi les ARN totaux.

Transcription et traduction ont lieu dans le même compartiment chez les procaryotes et les eucaryotes.

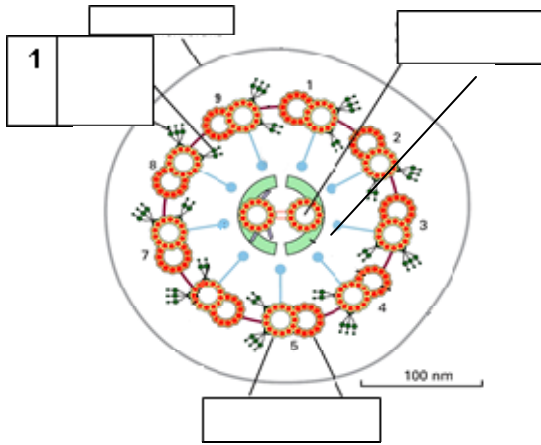
Question 2 : Définir chacun des termes suivants : Photosystème, Nucléosome, Maturation d'un pré-ARNm eucaryote, Complexe CDK-cycline.

Exercice 2 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

L'algue verte unicellulaire eucaryote *Chlamydomonas* est une cellule caractérisée par la présence de deux flagelles et d'un gros chloroplaste.

Question 1 : Les flagelles contiennent des microtubules, organisés de la même manière que dans les cils.

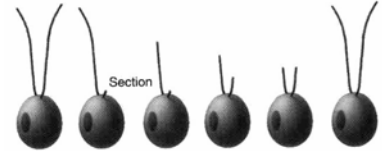
Légendez la figure ci-dessous, donnez-lui un titre et complétez tous les cadres :



Composition et organisation d'un microtubule

Propriétés structurales et fonctionnelles des molécules 1 :

Titre : -----



La figure ci-contre montre le déroulement de la régénération des flagelles de *Chlamydomonas* suite à l'amputation d'un des flagelles.

Question 2 : Commenter cette figure. Que pouvez-vous en déduire au sujet des microtubules ?

Question 3 : L'ATP nécessaire à l'ondulation des flagelles provient en partie des phosphorylations oxydatives mitochondriales. Expliquer à l'aide d'un schéma détaillé comment l'ATP est synthétisé par phosphorylation oxydative, à partir du glucose. Vous détaillerez bien les compartiments cellulaires concernés (le détail de la chaîne respiratoire n'est pas demandé).

Exercice 3 (sur 4,5 points) : (durée conseillée : 20 min.) (réponses sur la copie)

Expérience 1

Une population de cellules animales ayant un cycle cellulaire de 25 heures est maintenue en culture sur boîte. De la ³H-thymidine est ajoutée à la population de cellules à croissance asynchrone. Par la technique de « pulse-chase » on détermine que 32% des cellules présentent un marquage nucléaire au moment du pulse et une analyse microscopique permet de détecter les premières mitoses marquées au bout de 4h. Lorsqu'on évalue l'index mitotique (% de cellules en phase M) de ces cellules, il est de l'ordre de 8%.

Question 1 : Pourquoi de la thymidine radioactive est-elle ajoutée à la population de cellules ?

Question 2 : Que pouvez-vous calculer à partir de ces données ? (justifier)

Question 3 : Peut-on avoir un marquage en dehors du noyau (justifier) ?

Question 4 : Tracer le graphe d'évolution de la quantité d'ADN/cellule en fonction du temps (pour un cycle cellulaire). Positionner sur le graphe l'évènement de cytotédièrèse et le point de restriction.

Expérience 2

Des cellules animales d'origines différentes sont synchronisées à différents stades du cycle cellulaire pour réaliser une expérience de fusion de cellules.

Question 5 : Donner le résultat de la fusion en complétant le schéma ci-dessous (utiliser des couleurs différentes pour faciliter la lecture et légèrer clairement le schéma).



Question 6 : Interpréter les résultats de la fusion.

Exercice 4 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Soit le fragment d'ADN double brin :

Brin 1 : 5'AGTTTACGCTTGCTTGCTATCTCAACTCCGTGATACTATGTAGAGTTTCAGGCCTTCTATCGCGTATCCCATCTAA-3'

Brin 2 : 3'TCAAATGCGAACGAACGATAGAGTTGAGGCACTATGATACATCTCAAAGTCCGGAAGATAGCGCATAGGGTAGATT-5'

Question 1 : Sachant qu'un seul peptide est synthétisé, identifier le brin d'ADN transcrit, ainsi que le nombre d'acides aminés du peptide obtenu.

Données : codon d'initiation : AUG ; codons stop : UAA, UAG ou UGA.

Question 2 : Quel est l'anticodon (orienté) de l'acide aminé C-terminal ?

Soit une protéine P de 252 acides aminés,

Question 3 : Quelle est la taille (en nucléotides) du cadre de lecture ouvert de son ARNm (on prendra en compte le codon stop) ? (justifier)

Un génome bactérien circulaire de 4.10^6 pb se réplique en 40 minutes.

Question 4 : Quelle est la vitesse de réplication d'une ADN polymérase bactérienne, exprimée en nucléotides par min ? (justifier)

Exercice 5 (sur 4,5 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Question 1 : Répondre en justifiant sur votre copie :

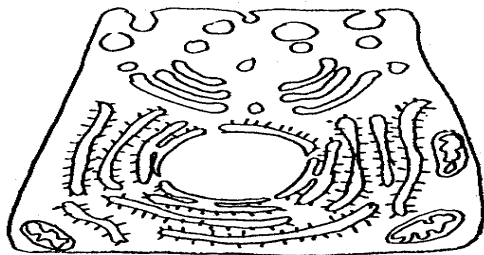
Une protéine cytosolique peut-elle être glycosylée ?

Même question pour une protéine membranaire intrinsèque interne (de la membrane plasmique).

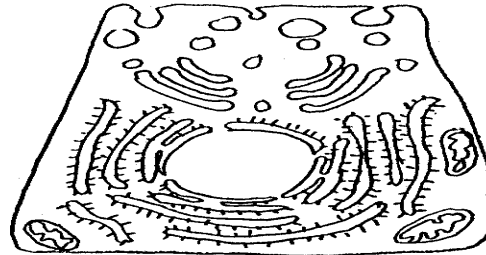
Même question pour une protéine membranaire extrinsèque externe (de la membrane plasmique).

On considère deux protéines de cellules acineuses pancréatiques : une **protéine transmembranaire glycosylée** (de la membrane plasmique) **P1** et une **protéine cytosolique P2**.

Question 2 : Flécher et ordonner pour chaque protéine les étapes se déroulant entre le début de sa traduction dans une cellule eucaryote (cellule acineuse) et sa localisation finale. Légender les compartiments impliqués.



Protéine transmembranaire glycosylée P1



Protéine cytosolique P2

Supposons que l'on possède les ARNm purifiés de la protéine **transmembranaire glycosylée P1** d'une part et les ARNm purifiés de la protéine **cytosolique P2** d'autre part.

Les synthèses des différentes protéines sont effectuées dans un système de traduction *in vitro*, en présence d'oses et éventuellement de microsomes rugueux.

A la fin de la traduction (environ 20 minutes), des échantillons identiques sont préparés et soumis à différents traitements : protéase, détergent puis protéase, rupture des microsomes puis endoglycosidase (endo H).

Question 3 : Définir les microsomes rugueux.

Question 4 : Compléter le résultat de l'électrophorèse SDS-PAGE pour chacune des 2 protéines.

Protéine P1

	Sans microsome				Avec microsomes			
Protéase	-	+	+	-	-	+	+	-
Détergent	-	-	+	-	-	-	+	-
Endo H	-	-	-	+	-	-	-	+
Dépôt→	1	2	3	4	5	6	7	8

Protéine P2

	Sans microsome				Avec microsomes			
Protéase	-	+	+	-	-	+	+	-
Détergent	-	-	+	-	-	-	+	-
Endo H	-	-	-	+	-	-	-	+
Dépôt→	1	2	3	4	5	6	7	8

Question 5 : Schématiser les protéines P1 et P2 dans ce test *in vitro* en présence de microsomes rugueux (piste 5).

EXAMEN de 1^{ère} session 2014-2015

Exercice 1 (sur 4 points) : Restitution de connaissances. (durée conseillée : 20 min.)

Question 1 : Répondre par OUI ou par NON à chacune des affirmations suivantes et justifier à chaque fois votre réponse. Tous les ARN sont codants.



Il n'y a pas de différence entre la cytotérière d'une cellule animale et celle d'une cellule végétale.

Question 2 : Définir chacun des termes suivants : expérience de pulse-chase, nucléole, maturation d'un pré-ARNm eucaryote, complexe CDK-cycline.

Exercice 2 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Le gradient électrochimique de protons est une forme d'énergie utilisable par les ATP synthases pour synthétiser de l'ATP.

Question 1 : Schématiser clairement les modalités de mise en place d'un gradient transmembranaire de protons pour former de l'ATP au sein d'une mitochondrie et d'un chloroplaste. Préciser et orienter la membrane concernée et nommer le type de phosphorylation correspondante.

	
Mitochondrie Type de phosphorylation :	Chloroplaste Type de phosphorylation :

La bactériorhodopsine est une protéine transmembranaire de la bactérie *Halobacterium halobium*, capable d'absorber des photons. Suite à l'absorption d'un photon, la bactériorhodopsine change de conformation et pompe directement des protons à travers la membrane dans laquelle elle est insérée.

Les chercheurs ont reconstitué *in vitro* des vésicules contenant des molécules de bactériorhodopsine et des molécules d'ATP synthase provenant de mitochondries de Bœuf. On suppose que toutes les molécules de bactériorhodopsine sont orientées de telle sorte que les protons sont pompés vers la lumière de la vésicule. Par contre, on suppose que l'orientation des différentes molécules d'ATP synthase est aléatoire.

Si l'on ajoute de l'ADP et du phosphate inorganique en excès au milieu externe et que l'on éclaire la suspension de vésicules, on constate qu'il y a production d'ATP.

Question 2 : Schématiser les vésicules reconstituées en précisant l'orientation des molécules d'ATP synthase compatible avec ce résultat.

Question 3 : La synthèse d'ATP continue-t-elle si la suspension n'est plus éclairée ? (justifier votre réponse)

Question 4 : Si les différentes molécules de bactériorhodopsine étaient orientées de manière aléatoire, pourrait-on s'attendre à une synthèse d'ATP après éclairage de la suspension ? (justifier votre réponse)

Exercice 3 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.) (réponses sur la copie)

Une population de cellules animales ayant un cycle cellulaire de 20 heures est maintenue en culture sur boîte. A tout instant, 40 % des cellules sont en phase G1 et 35 % sont en phase S.

Question 1 : Calculer la durée des phases G1 et S.

La culture cellulaire est alors synchronisée. **En tout début de S (to)**, la culture est placée dans un milieu de culture où la thymidine est remplacée en continu par une molécule voisine, la bromo-désoxy-uridine (BrdU). Celle-ci s'incorpore à la place de la désoxythymidine lors de la réplication. Les chromosomes mitotiques contenant de la BrdU peuvent être colorés par un réactif : l'acridine. Les chromatides sont oranges si la BrdU est présente sur les deux brins d'ADN, et jaunes si elle est présente sur un seul brin. Les chromosomes mitotiques sans BrdU ne sont pas colorés par l'acridine. Les premiers chromosomes mitotiques qui peuvent être colorés par l'acridine apparaissent à partir de $t_0 + 11\text{h}$.

Question 2 : En déduire la durée des deux autres phases du cycle cellulaire.

Question 3 : De quelle(s) couleur(s) apparaissent les chromosomes mitotiques à $t_0 + 11\text{h}$? (justifier)

Question 4 : De quelle(s) couleur(s) apparaissent les chromosomes mitotiques à $t_0 + 31\text{h}$? (justifier)

Exercice 4 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.)

Soit le fragment d'ADN double brin :

Brin 1 : 3' TCAAATGACAACGAACGATAGACTTGAGGCACTATGTTACATCTCAAAGTCCGGAAGATAGCGCATAGGGTAGAGT-5'
Brin 2 : 5' AGTTTACTGTTGCTTGCTATCTGAACTCCGTGATACAATGTAGAGTTTCAGGCCTTCTATCGCGTATCCCATCTCA-3'

Question 1 : Quelle est la séquence (orientée) du brin d'ADN qui sera synthétisée à partir du brin 2, en présence d'ADN polymérase, de l'amorce 5' AGCAAG 3' (à positionner) et des désoxyribonucléotides sauf le dTTP ?

Question 2 : Sachant qu'un seul peptide est synthétisé, identifier le brin d'ADN transcrit, ainsi que le nombre d'acides aminés du peptide obtenu.

Données : codon d'initiation : AUG ; codons stop : UAA, UAG ou UGA. Brin transcrit :

Nombre d'acides aminés :

Question 3 : Quel est l'anticodon (orienté) de l'ARNt spécifique de l'acide aminé C-terminal ?

On a identifié par ailleurs un gène codant eucaryote de 12,3 kb. La taille du cadre ouvert de lecture de l'ARNm correspond à 10 % de celle du gène.

Question 4 : Citer les 3 mécanismes d'expression génétique majeurs qui expliquent ce phénomène.

Question 5 : Quel sera le nombre d'acides aminés de la protéine traduite à partir de ce gène (justifier) ?

Exercice 5 (sur 4 points) : (durée conseillée : 20 min.) (réponses sur la copie sauf questions 1 et 2)

Question 1 : Faire un schéma orienté d'une portion de membrane plasmique en précisant les différents types de protéines membranaires.

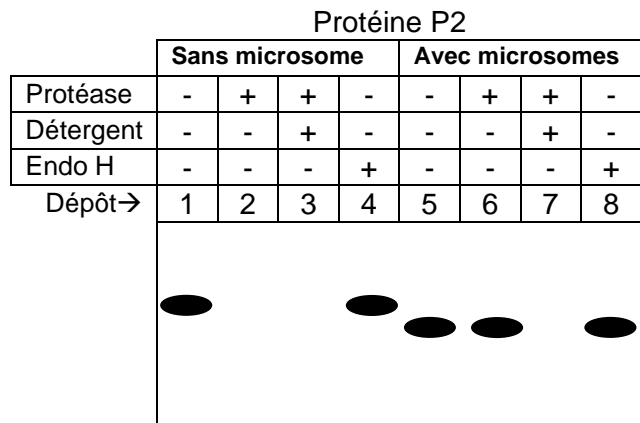
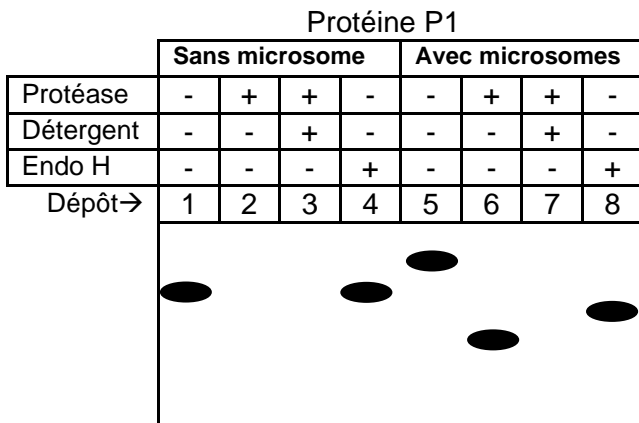
On souhaite préciser la localisation de deux protéines membranaires de la membrane plasmique, P1 et P2.

On effectue parallèlement une expérience de traduction *in vitro* à partir de l'ARNm purifié de P1 d'une part, de l'ARNm purifié de P2 d'autre part. Les synthèses des différentes protéines sont effectuées dans un système acellulaire de traduction *in vitro*, en présence d'oses et éventuellement de microsomes rugueux.

A la fin de la traduction (environ 20 minutes), des échantillons identiques sont préparés et soumis à différents traitements : protéase, détergent puis protéase, rupture des microsomes puis endoglycosidase (endo H).

Question 2 : Définir les microsomes rugueux.

Les résultats de l'électrophorèse SDS-PAGE pour chacune des 2 protéines sont les suivants :



Question 3 : Analyser chaque gel et en déduire la localisation des protéines P1 et P2 dans ce test *in vitro* en présence de microsomes rugueux.

Question 4 : Quelles sont les principales étapes du transit intracellulaire de ces deux protéines *in vivo* ?

Question 5 : Quelles peuvent être les localisations de P1 et P2 au niveau de la membrane plasmique ?