

BIOLOGIE 2

Durée : 1 heure 30 minutes

Les calculatrices ne sont pas autorisées pour cette épreuve.

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.

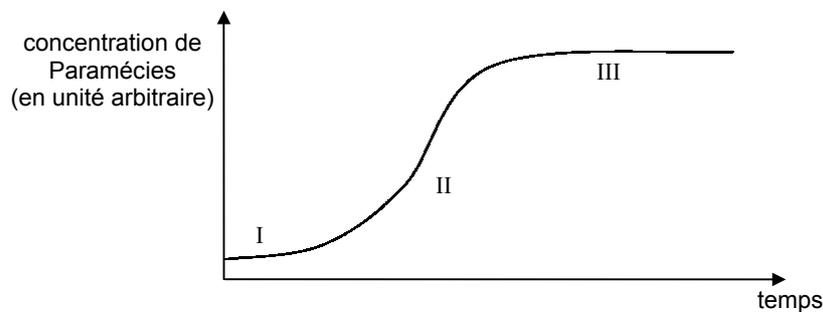
LES PHENOMENES DE RECONNAISSANCE CHEZ LES UNICELLULAIRES

1. CAS DES PROTOZOAIRES

La conjugaison entre deux Ciliés appartenant à la même espèce ne peut avoir lieu qu'entre cellules de types sexuels complémentaires. Le début de la conjugaison nécessite une phase de reconnaissance qui aboutit à l'agglutination de deux types sexuels complémentaires : c'est la formation des paires de conjugants.

Chez la paramécie, la courbe de croissance d'une population a l'allure présentée ci-dessous.

1.1. Interprétez les trois parties distinguables de cette courbe, I, II et III.



La réaction d'agglutination chez *Paramecium* n'est possible qu'en phase III de la courbe de croissance.

1.2. Proposez une explication pour le déclenchement de la phase de reconnaissance.

Après l'agglutination, les deux types cellulaires de paramécies s'unissent par la face ventrale et commencent alors les phénomènes sexuels de la conjugaison.

1.3. Décrivez ces phénomènes.

Chez le genre *Paramecium*, l'agglutination de cellules de types sexuels complémentaires suit immédiatement le mélange des deux types de cellules prises en phase III de croissance. Dans ce cas, le renouvellement fréquent du milieu n'empêche pas cette agglutination. Par contre, lorsque les cellules sont traitées avec une protéase comme la trypsine, la réaction d'agglutination devient impossible.

Chez le genre *Blepharisma*, l'agglutination s'observe une à deux heures après le mélange des cellules complémentaires. Des cellules de type I excrètent une substance appelée gamone 1 dans le milieu extracellulaire. Cette gamone agit spécifiquement sur les cellules de type II qui d'une part deviennent aptes à la conjugaison et d'autre part libèrent dans le milieu extracellulaire une gamone 2 spécifique des cellules de type I. Sous l'action de la gamone 2, les cellules de type I deviennent aptes à la conjugaison. De plus, la gamone 2 effectue un rétrocontrôle positif.

1.4. Réalisez un schéma illustrant les deux mécanismes de reconnaissance en tenant compte des différences constatées chez *Paramecium* et *Blepharisma*.

2. CAS DES LEVURES (D'après Q.Chen et J.B.Konopka, Molecular and Cellular Biology, janvier 1996)

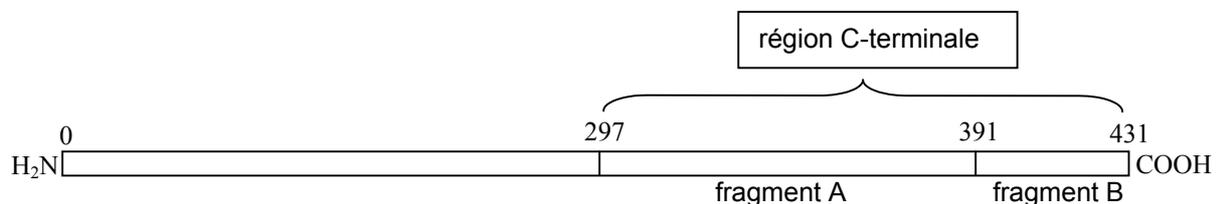
La levure du boulanger, *Saccharomyces cerevisiae* se multiplie par bourgeonnement lorsque les conditions de culture sont favorables. En cas de carence nutritionnelle, les levures entrent dans le cycle de reproduction sexuée. Celui-ci commence par une méiose qui aboutit à des spores haploïdes. Ces spores peuvent se multiplier ou entrer en conjugaison.

La conjugaison se produit lorsque deux cellules haploïdes de la même espèce et de types sexuels complémentaires sont réunies. L'arrêt des divisions et l'entrée en conjugaison mettent en jeu des phéromones, substances produites par une cellule et qui agissent sur l'autre type cellulaire par l'intermédiaire d'un phénomène de transduction faisant intervenir un récepteur à sept domaines transmembranaires et couplé à une protéine G. L'un des types cellulaires libère une phéromone appelée facteur α qui agit sur l'autre type cellulaire portant le récepteur au facteur α appelé STE2.

On s'intéresse à la relation structure-fonction du récepteur au facteur α et notamment à la région C-terminale de ce récepteur.

On construit plusieurs souches de levures :

- Souche S : souche sauvage dont le récepteur STE2 est schématisé de la façon suivante :
Les valeurs indiquent la position des acides aminés dans la chaîne polypeptidique.
Le fragment B contient entre autres 3 thréonines et une sérine.



Remarque : cette représentation ne tient pas compte de la structure tridimensionnelle du récepteur.

- Souche 1 : souche fabriquée à partir de la souche S dans laquelle les trois thréonines et la sérine du fragment B sont remplacées par quatre alanines.
- Souche 2 : souche fabriquée à partir de la souche S dans laquelle une délétion dans le gène du récepteur provoque la disparition du fragment A.
- Souche 3 : souche fabriquée à partir de la souche 2, dans laquelle les trois thréonines et la sérine du fragment B sont remplacées par quatre alanines.
- Souche 4 : souche fabriquée à partir de la souche S, dans laquelle une délétion dans le gène du récepteur provoque la disparition des fragments A et B.

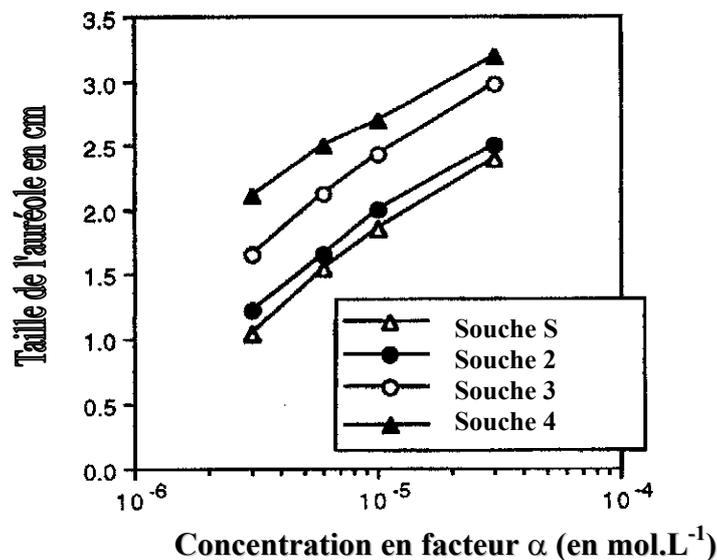
On considère que chacun de ces récepteurs fixe le facteur α avec la même affinité.

2.1. Rappelez la structure et le mode d'action de ce type de récepteur.

On place des levures en culture dans des boîtes de Petri. On dépose au centre une quantité connue de facteur α et on laisse incuber deux jours. Une auréole apparaît autour du point de dépôt, elle correspond à la zone dans laquelle les cellules ne se sont pas multipliées. Ainsi, on évalue l'efficacité de la réponse cellulaire au facteur α , en mesurant le diamètre de l'auréole qui se forme. Un diamètre élevé correspond à une réponse accrue des cellules. On obtient les résultats présentés sur le document 1 de la page 3.

2.2. A partir du commentaire de ces résultats, déterminez le rôle de la région C-terminale du récepteur STE2.

Document 1 : Efficacité de la réponse cellulaire au facteur α des récepteurs des différentes souches de levure.



On réalise des expériences de phosphorylation sur les souches 2 et 3. Les cellules de levure sont mises en culture avec du phosphate radioactif (³²PO₄) pendant 30 minutes. Puis on fait incuber en présence ou en absence du facteur α pendant 15 minutes. Les cellules sont ensuite broyées et on récupère le récepteur STE2 à l'aide d'anticorps spécifiques. L'ensemble est soumis à une électrophorèse sur gel pour séparer les protéines. La radioactivité est révélée par autoradiographie. Les anticorps spécifiques reconnaissent le récepteur qu'il soit modifié ou non. Les résultats sont présentés sur le document 2 (page 4).

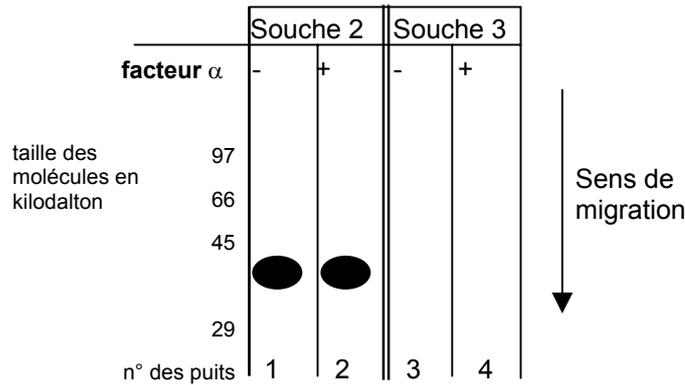
2.3. A partir des résultats présentés sur les documents 1 ou 2, justifiez votre réponse aux questions suivantes :

2.3.1. Le facteur α est-il déterminant dans la présence de la phosphorylation ?

2.3.2. Indiquez la localisation de la phosphorylation.

2.3.3. Proposez un rôle à cette phosphorylation.

Document 2 : Autoradiogramme obtenu dans différentes conditions.



On mesure l'évolution du nombre de récepteurs à la surface des cellules après avoir bloqué la synthèse des protéines en présence ou en absence du facteur α , pour les souches S, 1 et 4. Les résultats sont donnés dans le document 3 (page 4).

2.4. Quel phénomène cytologique est à l'origine de la décroissance d'une de ces courbes ?

Analysez les résultats obtenus pour répondre aux questions suivantes :

2.4.1. Le facteur α influence-t-il le phénomène décrit en 2.4. ?

2.4.2. Quelle partie du récepteur est responsable de ce phénomène ?

2.4.3. La phosphorylation influence-t-elle ce phénomène ?

Document 3 : Evolution du nombre de récepteurs présents à la surface de la cellule en fonction du temps et du type de récepteurs.

3A : en absence du facteur α – 3B : en présence du facteur α

