

## Epreuve de TD-TP

Durée 45 minutes, calculatrices non autorisées

Rédiger sur une copie séparée

### Problème 1, durée conseillée 20 minutes

Chez l'haplonte *Chlamydomonas reinhardtii*, on considère un croisement entre deux souches qui diffèrent par deux couples d'allèles: le couple d'allèles a et a<sup>+</sup> et le couple d'allèles b et b<sup>+</sup>. La souche n°1 est mutée pour le caractère a et la souche n°2 est mutée pour le caractère b.

1 - Ecrivez les génotypes et phénotypes de chacune de ces deux souches.

A l'issue de ce croisement, 2000 tétrades ont été analysées :

180 contiennent : 2 spores a<sup>+</sup>, b<sup>+</sup> et 2 spores a, b

1620 contiennent : 2 spores a<sup>+</sup>, b et 2 spores a, b<sup>+</sup>

200 contiennent : 1 spore a<sup>+</sup>, b<sup>+</sup> ; 1 spore a, b<sup>+</sup> ; 1 spore a<sup>+</sup>, b ; 1 spore a, b

2 - Quelles informations tirez-vous de ce résultat ? Justifiez votre réponse.

### Problème 2, durée conseillée 25 minutes

Dans l'ensemble de ce problème les allèles mutés des gènes considérés sont récessifs.

Lors d'un croisement entre deux drosophiles de phénotype sauvage, on a obtenu la descendance suivante :

9/16 de mouches sauvages

3/16 de mouches à œil sépia

3/16 de mouches à ailes vestigiales

1/16 de mouches à ailes vestigiales et œil sépia

1 - Interprétez ces résultats.

2 - Ecrivez les génotypes du mâle et de la femelle utilisés pour ce croisement. Justifiez vos réponses.

Une femelle de génotype identique à celui de la femelle du premier croisement est croisée par un mâle de phénotype corps noir, œil sépia, ailes vestigiales.

On obtient la descendance suivante :

20,0% de mouches sauvages

20,2% de mouches à corps noir, œil sépia, ailes vestigiales

20,8% de mouches à corps noir, ailes vestigiales

21,0% de mouches à œil sépia

4,1% de mouches à corps noir, œil sépia

4,5% de mouches à œil sépia, ailes vestigiales

4,6% de mouches à ailes vestigiales

4,8% de mouches à corps noir

3 - Interprétez ces résultats. Justifiez votre réponse.

4 - Ecrivez le génotype de chacun des descendants.

5 - Déduisez le génotype du mâle et le génotype de la femelle utilisés pour ce second croisement.

UE de Génétique 1 (BIO1003L)

Contrôle Continu Terminal 16 Juin 2010

Epreuve de cours

Durée 45 minutes, calculatrices non autorisées

**Rédiger sur une copie séparée**

**Question 1, durée conseillée 20 minutes**

1 - Représentez à l'aide de schémas légendés

- a - le sens du maintien et du transfert de l'information génétique, de l'ADN à la protéine, en précisant le nom de chaque étape
- b - un gène eucaryote constitué de trois exons et deux introns, en précisant son orientation 5' et 3' et la localisation de son promoteur
- c - l'ARN messager issu de ce gène, en précisant son orientation et ses différentes régions fonctionnelles
- d - le polypeptide codé par le gène, en précisant son orientation

**Question 2, durée conseillée 20 minutes**

Considérons chez l'haplonte *Chlamydomonas reinhardtii* deux couples d'allèles : le couple d'allèles a et a<sup>+</sup> et le couple d'allèles b et b<sup>+</sup>.

1 - Ces couples d'allèles sont liés, qu'est-ce que cela signifie ?

Vous disposez de deux souches, la souche n°1 est mutée pour le caractère a et la souche n°2 est mutée pour le caractère b.

2 - Dessinez le contenu chromosomique d'un zygote, avant qu'il n'entre en méiose, résultant de la fusion d'une spore de la souche n°1 avec une spore de la souche n°2. Vous préciserez les allèles portés par chacun des chromosomes.

3 - Montrez par des schémas comment on obtient une tétrade DNP dans la descendance de ce croisement.

**Question 3, durée conseillée 5 minutes**

A l'aide d'un schéma légendé, indiquez l'organisation de l'opéron lactose chez la bactérie *Escherichia coli*.

E10 1004 L

## Mathématiques Pour les Sciences de la Vie

Contrôle Continu 5 – Analyse

Durée: 1h30

19 janvier 2010

Ceci est une épreuve *individuelle*. Seuls la calculatrice et un formulaire original au format A4 recto-verso manuscrit sont autorisés pendant l'épreuve. Sans préjuger des sanctions prises ultérieurement par le conseil de discipline de l'Université, toute tentative de copie pendant l'épreuve sera sanctionnée par la répartition des points de la plus mauvaise copie entre le copieur et le copié.

L'usage des téléphones portables ou de tout autre moyen de communication est *strictement interdit*, en conséquence les téléphones portables doivent être *éteints et dans votre sac*.

### Préliminaires

Cet examen vous montre un exemple de modélisation par des équations différentielles d'un système biologique. *Il vous sera très difficile de tout faire en 1h30 et ce ne sera pas nécessaire pour avoir la note maximale.*

Travaillez calmement, en prenant le temps de vérifier vos calculs. Par exemple quand vous intégrez une équation différentielle il faut souvent moins de 5 mn pour dériver les solutions et vérifier qu'elles vérifient l'équation de départ.

Bon travail à tous!

## Introduction

L'objectif général du problème est la construction et l'étude d'un modèle décrivant l'évolution du nombre d'individus dans une population animale. On notera  $x$  ce nombre exprimé dans une unité arbitraire.  $x$  est donc un nombre réel (et non un entier) positif. Le temps sera noté  $t$  et on notera  $x_0$  le nombre d'individus au temps  $t = 0$ . On s'intéresse à une population de faible densité dans laquelle la rencontre de deux individus est l'événement limitant la reproduction. On admettra que la fréquence de rencontre de deux individus est proportionnelle au carré de  $x$ . Deux modèles seront étudiés successivement

### Premier modèle

Soit l'équation différentielle :

$$\frac{dx}{dt} = rx^2 \quad (1)$$

1. Expliquez pourquoi cette équation constitue une modélisation du problème posé en introduction, en particulier vous justifierez que  $r$  doit être positif.
2. *Sans intégrer l'équation différentielle 1*, donnez le sens de variation de  $x(t)$ .
3. *Sans intégrer l'équation différentielle 1*, précisez si les graphes représentatifs des fonctions  $x(t)$ , solutions de l'équation 1, présentent des points d'inflexion.
4. En prenant en compte la condition initiale précisée en introduction, intégrez l'équation différentielle 1.
5. Soit  $x(t)$  une fonction solution de l'équation différentielle 1. Faites l'étude de  $x(t)$  de la façon suivante :
  - (a) Établissez le tableau de variation de la fonction  $x(t)$ .
  - (b) Tracez le graphe de la fonction  $x(t)$ .
6. À partir de l'étude que vous venez de réaliser, précisez la (les) limite(s) de la validité biologique de ce modèle.

### Deuxième modèle

Pour améliorer le premier modèle, on introduit un terme dit "de freinage". On ne justifiera pas ici ce terme qui conduit à la nouvelle équation différentielle :

$$\frac{dx}{dt} = rx^2(K - x) \quad (2)$$

où  $r$  et  $K$  sont des paramètres réels strictement positifs.

Suite au dos...

Dans les questions suivantes (1 et 2), vous étudierez les caractéristiques des graphes des fonctions  $x(t)$ , solutions de l'équation 2, sans pour autant intégrer cette équation différentielle.

1. *Sans intégrer l'équation différentielle 2*, étudiez le sens de variation de  $x(t)$  en fonction de  $x$ .

2. *Remarque : ne passez pas plus de 5 mn sur cette question un peu plus difficile.*  
*Sans intégrer l'équation différentielle 2 ni rechercher la valeur de  $t$  correspondante*, montrez que les graphes des fonctions  $x(t)$ , solutions de l'équation 2, montrent un point d'inflexion pour  $x = \frac{2K}{3}$ .

*On ne peut pas trouver simplement  $x$  en fonction de  $t$* , on se propose d'y accéder indirectement en exprimant  $t$  en fonction de  $x$ ; pour cela, on s'intéresse à l'équation différentielle :

$$\frac{dt}{dx} = \frac{1}{rx^2(K-x)} \quad (3)$$

En admettant qu'il existe des constantes  $A$ ,  $B$  et  $C$  qui vérifient :

$$\frac{1}{x^2(K-x)} = \frac{A}{x} + \frac{B}{x^2} + \frac{C}{K-x}$$

3. Trouvez les valeurs de  $A$ ,  $B$  et  $C$  en fonction de  $K$ .

4. Trouvez la famille des fonctions  $t(x)$ , solutions de l'équation 3.

Soit une fonction  $t(x)$ , solution de l'équation 3. Dans les questions suivantes (5 et 6) vous étudierez la fonction  $t(x)$ ; sa fonction réciproque  $x(t)$  fera l'objet de la question 7.

5. En vous rappelant que la dérivée  $t'(x)$  est donnée par l'équation 3, établissez le tableau de variation de la fonction  $t(x)$ .

6. Tracez le graphe de la fonction  $t(x)$ . Vous indiquerez l'effet de la constante d'intégration sur le graphe de la fonction.

*Remarque importante* : ne cherchez pas ici le point d'inflexion (voir point 2).

7. En utilisant la relation entre le graphe d'une fonction et celui de sa fonction réciproque, tracez le graphe de la fonction  $x(t)$  (remarque : pour  $x_0 > 0$ , il existe deux formes différentes en fonction de la position de  $x_0$  par rapport à  $K$ ).

8. Discutez les conséquences biologiques du modèle.

## Mathématiques Pour les Sciences de la Vie

Contrôle Continu 5 – Analyse

Durée: 1h30

16 juin 2010

Ceci est une épreuve *individuelle*. Seuls la calculatrice et un formulaire original au format A4 recto-verso manuscrit sont autorisés pendant l'épreuve. Sans préjuger des sanctions prises ultérieurement par le conseil de discipline de l'Université, toute tentative de copie pendant l'épreuve sera sanctionnée par la répartition des points de la plus mauvaise copie entre le copieur et le copié.

L'usage des téléphones portables ou de tout autre moyen de communication est *strictement interdit*, en conséquence les téléphones portables doivent être *éteints et dans votre sac*.

### Question de cours : L'intégration par partie.

1. Démontrez la formule de l'intégration par partie.
2. Donnez un exemple pédagogique dont vous expliquerez l'intégration (un étudiant de première année de licence doit pouvoir comprendre votre explication).

### Résolution d'une équation différentielle

On veut résoudre l'équation différentielle

$$xy + y' = x \tag{1}$$

Pour cela, vous appliquerez la méthode suivante :

3. Résolvez l'équation 1 sans second membre.
4. Résolvez l'équation 1 avec second membre par la méthode de votre choix.
5. Déterminez la solution de l'équation 1, notée  $y_1$ , satisfaisant la condition initiale  $y_1(0) = 0$ .
6. Faites l'étude de la fonction  $y_1$ . Pour l'étude de fonction, vous procéderez strictement selon la méthode vue en cours afin d'obtenir le tableau de variation de  $y_1$  et vous ferez la recherche des points d'inflexion.
7. Sur la figure 1 ci-jointe, tracez la courbe représentative de la fonctions  $y_1$ . Vous détacherez la feuille et la joindrez à votre copie.

**Intégration**

8. Cherchez les fonctions qui admettent comme dérivée

$$\frac{1}{x \left(\ln \frac{K}{x}\right)^2} \quad (2)$$

où  $K$  est une constante réelle strictement positive.

**Modélisation de la dynamique d'une population**

Pour modéliser la croissance d'une population, on doit prendre en compte à la fois le fait qu'un plus grand nombre d'individus va produire proportionnellement plus de descendants et le fait que les ressources disponibles sont limitées.

De nombreux modèles prennent la forme de l'équation 3

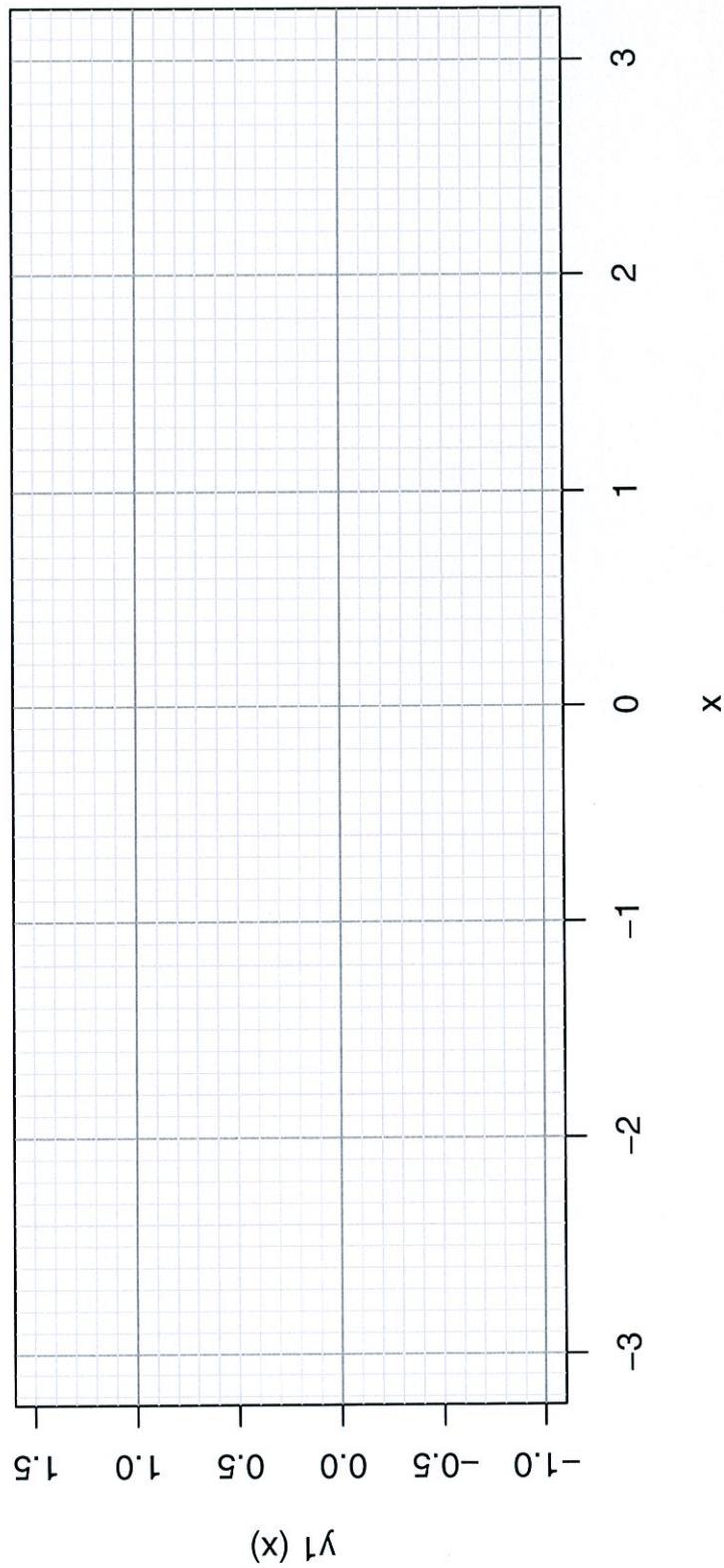
$$\frac{dy}{dt} = ryf(y) \quad (3)$$

où  $r$  est un réel strictement positif et  $f$  une fonction décroissante de  $y$ .

9. Expliquez le sens de  $r$  et  $f(y)$ .
10. Johnson et Schumacher proposent un modèle de dynamique des populations avec  $f(y) = \left(\ln \frac{K}{y}\right)^2$ , pour  $y \leq K$  (où  $K$  est un paramètre strictement positif). Montrez que  $f$  est décroissante pour  $y \in ]0; K]$ .
11. Trouvez la solution  $y$  du modèle de l'équation 3, vérifiant la condition initiale  $y(0) = y_0$

Numéro d'anonymat de votre copie :

FIGURE 1 – Courbe représentative de  $y_1$  (à détacher et à rendre avec votre copie)



**UE de Biologie Générale BIO1005L**

**Examen final de génétique du 21 janvier 2010**

**Durée 30 minutes, calculatrices non autorisées**

**Répondre sur une copie séparée.**

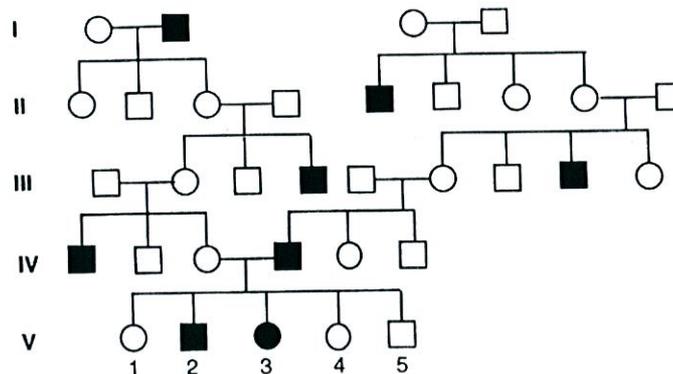
**Exercice 1**

Le lysozyme est une protéine impliquée dans la défense des organismes contre les bactéries. Chez le poulet, sa masse moléculaire est de 15 kDa.

1. Pour la commodité du calcul, on admet que la masse moléculaire moyenne d'un acide aminé est de 110 daltons, quelle est la taille (en acides aminés) de cette protéine ?
2. Quelle est la longueur de la partie codante de l'ARN messager de cette protéine ?
3. Le gène du lysozyme de poulet est constitué de 45 kpb. Quelle est la proportion (en %) de cette séquence qui code la chaîne polypeptidique ? (justifiez votre réponse).
4. On s'aperçoit que, souvent, seule une faible proportion de la séquence nucléotidique d'un gène eucaryote est traduite en chaîne polypeptidique, expliquez en utilisant des schémas simples les raisons de ce phénomène.

**Exercice 2**

Soit l'arbre généalogique suivant :



1. Quel est le type de transmission le plus probable. Justifiez votre réponse.
2. Ecrivez le génotype de l'individu V-2, de ses parents IV-3 et IV-4 et de ses frères et sœurs.
3. - Si l'homme V-2 a des enfants avec une femme normale homozygote, quelle est la probabilité pour que leur premier enfant soit porteur?

BIO 1507 L

Université Claude Bernard – Lyon 1

2<sup>nd</sup> contrôle continu S1 2009-2010

U. E. de BIOLOGIE des ORGANISMES 1 (BO1)

Sujet de BOA (durée : 45 mn)

1/ **Donnez l'arbre phylogénétique simplifié des Métazoaires conduisant aux dix groupes étudiés (les nommer évidemment).** *5 points*

2/ **Nommez au moins deux innovations évolutives partagées qui caractérisent chacune des 5 lignées majeures formant l'arbre précédent.** *5 points*

3/ **Le terme de « vers » recouvre en zoologie des groupes d'animaux bien différents. Schématisez l'architecture et l'état pour chacun afin de bien mettre en évidence les différences dans leurs plans d'organisation (dessins légendés et titrés sur la double page de la copie d'examen, svp.).** *10 points*

---

*Inscrivez sur la copie votre section (amphi) : 31 (M. Creuzé des Châtelliers), 32 (B. Cellot)*

BIO 1008 L

**Licence Sciences Technologies Santé**  
**UE Biologie des organismes 1**  
**Biologie des organismes végétaux 2009-2010**  
Contrôle continu du 20 janvier 2010  
Durée : 45 minutes  
Calculatrices et documents interdits

Indiquer en haut à gauche de la copie le nom de l'enseignant qui vous a fait cours  
(Régis Pépin ou Daniel Prat)

**Question 1**

Faites les schémas légendés des apex racinaire et apex caulinaire. Comparez en quelques lignes les traits majeurs de ces deux apex en insistant sur leurs différences.

**Question 2**

Définissez le plus précisément possible en quelques lignes complétées par un dessin légendé les termes botaniques suivants : Endoderme, Plasmodesme, Rhizome, Stipule.

BIO 1008L

**1<sup>o</sup> année de Licence**  
**Biologie des organismes - Organismes végétaux**  
**Examen de cours du 17 juin 2010**

1) Donner un schéma légendé et une définition en quatre lignes maximum pour les termes suivants : rhizome ; sympodiale ; phelloderme ; feuille ; protoxylème.

2) Nature et fonction des éléments constitutifs du xylème chez les Angiospermes – développer en deux pages maximum, en privilégiant les schémas légendés.

# UE Agriculture et Agronomie – BIO2001L

Session de juin 2010 – 7 juin 2010

Durée 2 h – tout document interdit – calculatrice autorisée  
Répondez de façon aussi concise et précise que possible ; structurer votre réponse.

1. Afin d'évaluer les paramètres génétiques de la masse de graines produites chez le colza, un plan de croisement factoriel a été réalisé en impliquant trois parents utilisés comme femelles et trois parents utilisés comme mâles, tous représentatifs de la diversité de la population d'origine. Les différentes descendance ont été semées et évaluées pour leur production de graines dans un site homogène. Au total, les mesures ont porté sur 1800 plants. La variance phénotypique observée pour ce caractère dans cet essai est de 486,12. Les valeurs moyennes de chaque croisement sont fournies dans le tableau suivant :

♀ \ ♂	M176	RO7	AS93
H254	24,2	35,4	28,3
H10	33,7	47,1	39,2
L217	19,5	34,5	19,8

- Définissez les aptitudes générales à la combinaison (AGC) et les aptitudes spécifiques à la combinaison (ASC), puis calculez pour chaque parent sa valeur d'aptitude générale à la combinaison, en écart par rapport à la moyenne générale.
  - Définissez le paramètre hérabilité au sens strict et au sens large.
  - Sachant que dans ce dispositif la variance génétique additive est de 4 fois la moyenne des variances des AGC des parents femelles et des parents mâles, calculez l'hérabilité au sens strict.
  - Cette valeur, permet-elle d'envisager une amélioration rapide du caractère considéré ? Expliquez votre réponse.
- Temps conseillé : 35 mn*

2. Le croisement entre les parents H10 et L217, a aussi été réalisé. La génération F2 issue de ce croisement est installée dans un dispositif expérimental homogène. L'objectif de l'étude est la localisation dans le génome des gènes intervenant dans la masse de graines. Une carte génétique comportant 347 marqueurs et couvrant l'ensemble du génome a été produite pour ce croisement.

- Expliquez ce qu'est une carte génétique et son intérêt pour la localisation des QTL.
- Expliquez le choix des parents.
- Comment vous allez procéder à la localisation des QTL contrôlant la taille du grain et ségrégant dans cette génération F2 ; de quelles données vous avez besoin.

*Temps conseillé : 25 mn*

3. En lutte biologique, on peut utiliser une lutte qualifiée d'autocide. Donnez une définition rapide de cette méthode et des exemples de son application.  
**Répondez à cette question sur une feuille intercalaire indépendante en y portant votre numéro d'anonymat.**  
*Temps conseillé : 10 mn*

4. Voir feuille jointe ; *Temps conseillé : 30 mn*

5. Voir feuille jointe ; *Temps conseillé : 20 mn*

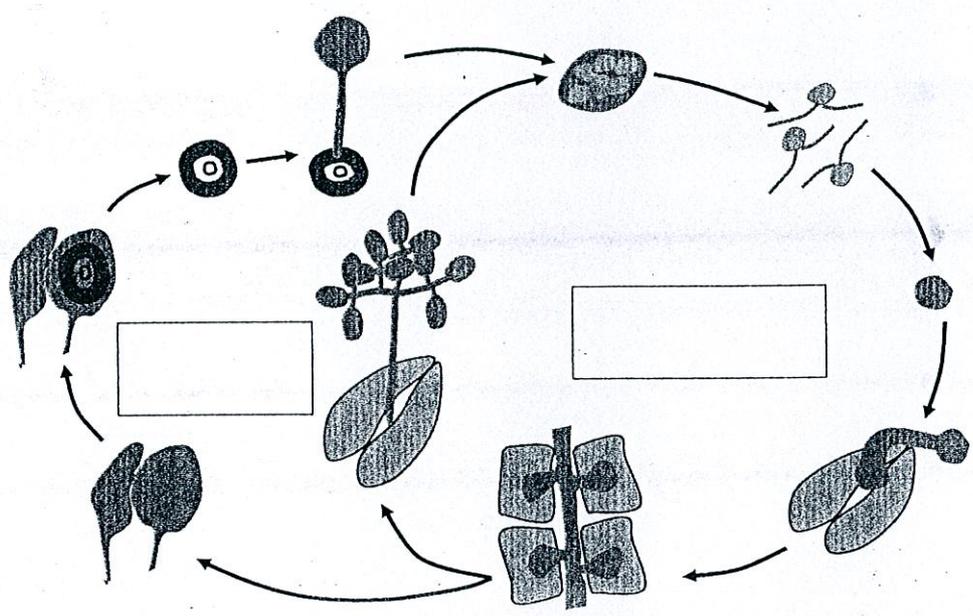
Numéro d'anonymat de la copie :

4. COCHEZ LES PROPOSITIONS JUSTES (de 0 à 4 justes par question sont possibles)

- 1 On utilise dans le monde (en tonnage)
  - Plus d'herbicides que de fongicides
  - Plus d'insecticides que de fongicides
  - Moins de mollusquicides que d'insecticides
  - Plus de fongicides que d'engrais
  
- 2 - Les fongicides multisites disponibles sur le marché
  - S'appliquent à de très faibles doses /Ha
  - Sont tous des produits récents
  - Ont un mode d'action complexe
  - Ont généralement un spectre large
  
- 3 - Parmi les fongicides disponibles (autorisés)
  - Il y a de plus en plus de produits minéraux
  - Il y a surtout des produits organiques
  - Les unisites sont majoritaires
  - Une majorité sont d'origine naturelle
  
- 4 - La systémie des fongicides "systémiques"
  - Est le plus souvent xylémienne
  - Est le plus souvent ascendante
  - Dépend de facteurs parfaitement connus
  - Est exceptionnellement phloémienne
  
- 5 - Les champignons vrais participent
  - Au cycle du carbone
  - Au cycle de l'azote
  - A la fixation de l'azote libre (N<sub>2</sub>)
  - A différentes symbioses
  
- 6 - Les fongicides agricoles s'emploient
  - Dans une formulation
  - Surtout préventivement
  - A l'état de matière active pure
  - Souvent par pulvérisation
  
- 7 - Le traitement préventif contre les champignons phytopathogènes
  - Est interdit
  - Est le cas le plus général
  - N'est applicable qu'aux oomycètes
  - Ne peut pas se faire par traitement foliaire
  
- 8 - Un dossier d'homologation comporte obligatoirement
  - Un plan de financement
  - Des tests de mutagénicité
  - Une méthode de dosage du produit
  - Une étude de métabolisme
  
- 9 - La résistance aux fongicides
  - Est un phénomène fréquent
  - Est retardée en alternant des produits de même mode d'action
  - Répond à un mécanisme de mutation / sélection "Darwinien"
  - Concerne surtout les produits à mode d'action multisite
  
- 10 - Aucun traitement antifongique n'est autorisé
  - En agriculture biologique
  - Pendant le délai de carence avant récolte
  - En post récolte
  - En hiver

Numéro d'anonymat de la copie :

5. Donnez un titre et une légende explicative à ce schéma ; ajoutez un commentaire libre de quelques lignes au dos de cette feuille.



Titre :

BIO 2003 L

L2 BGSTU, UE de Biochimie et Biologie Cellulaire

janvier 2010 session 1

Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)

Durée : 45 minutes

Question 1 : Décrire les mécanismes de l'absorption du glucose par les cellules intestinales.

Question 2 : Expliquer le mécanisme de polymérisation des microtubules et la notion d'instabilité dynamique.

Question 3 : Donner les caractéristiques ultrastructurales, moléculaires et fonctionnelles des jonctions intermédiaires.

Sujet de Travaux Pratiques de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)  
Durée : environ 20 minutes.

Question 1 : Dessinez et légendez une cellule en culture après un marquage fluorescent à la phalloïdine-rhodamine.

Question 2 : Quelles sont les deux méthodes permettant de réaliser un caryotype. Décrivez brièvement le principe de ces deux méthodes.

Question 3 : Vous souhaitez préparer 50 ml d'une solution de  $\beta$ -glycérophosphate de sodium à 1,25%. Combien en pesez-vous ? A quoi sert ce composant dans le milieu d'incubation lors de la révélation des phosphatases acides sur des coupes à congélation de thymus de rat ?

BIO 2003 L

L2 BGSTU, UE de Biochimie et Biologie Cellulaire

janvier 2010 session 2

Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)

Durée : 45 minutes

Question 1 : Expliquer les mécanismes moléculaires liés à la diapédèse.

Question 2 : Structure et fonction des lamines.

Question 3 : Donner les caractéristiques ultrastructurales, moléculaires et fonctionnelles des jonctions intermédiaires.

## L2 Biochimie Biologie Cellulaire

**Sujet de Travaux Pratiques de Biologie Cellulaire**  
(à rédiger sur une copie séparée)  
Calculatrice non autorisée  
Durée : environ 30 minutes.

Question 1 : Vous devez préparer les solutions suivantes :

- 50 ml de paraformaldéhyde à 2,5%
- 25 ml de glycérol à 10%

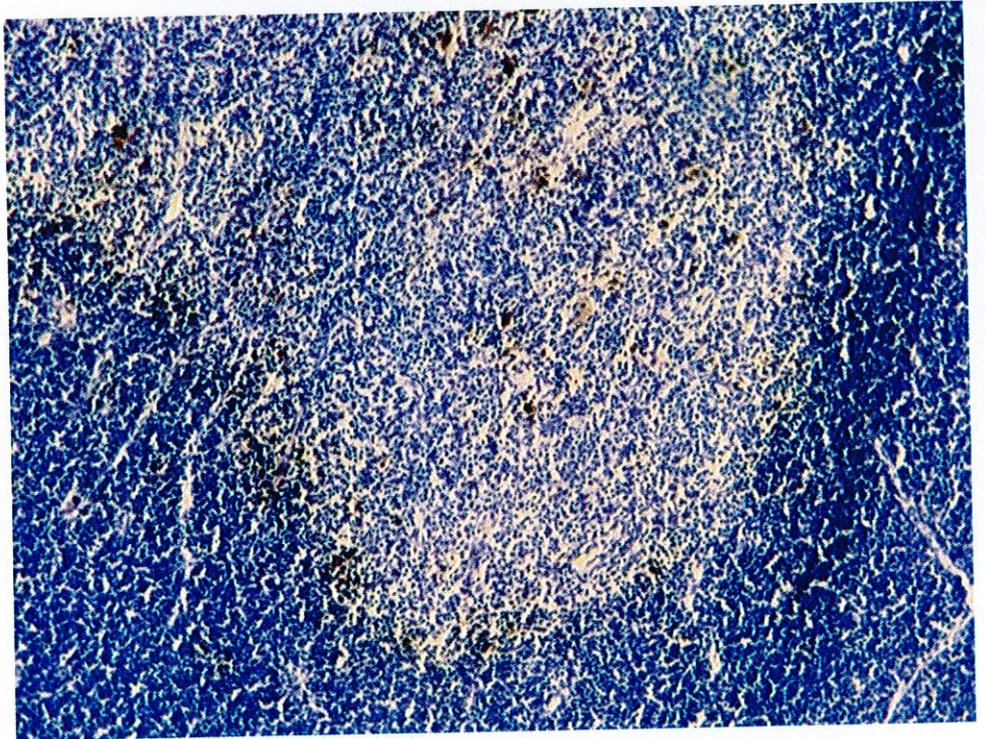
Quelle masse de paraformaldéhyde allez-vous peser ?

Quels volumes de glycérol et de PBS 1X allez-vous prélever ?

Question 2 : Quelles sont les propriétés d'une molécule fluorescente ?

Question 3 : Légendez la photo du thymus ci-dessous prise après marquage des phosphatases acides.

Quel est le type cellulaire mis en évidence par ce marquage ?



Question 4 : Lors de la manipulation du caryotype, décrivez les étapes et le rôle de chacune d'elles de la culture cellulaire jusqu'à l'obtention d'un culot de cellules

## UE Génétique 2

Examen de TD/TP  
2 sujets à rédiger sur une copie séparée

### Sujet de Génétique des Populations

Durée conseillée 1h00  
Documents interdits, calculatrices autorisées

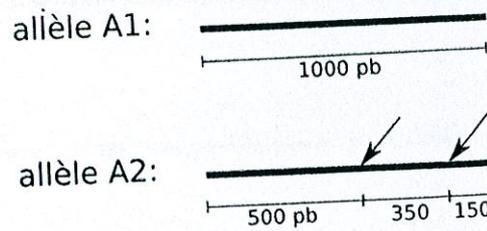
#### Exercice 1

On considère les loci M/N (M et N codominants) et Rh+/Rh- (Rh+ dominant sur Rh-) dans deux populations humaines. La fréquence de l'allèle M est de 0,24 dans la population 1 et de 0,09 dans la population 2. La fréquence de l'allèle Rh+ est de 0,60 dans la population 1 et de 0,84 dans la population 2. La condition de panmixie est respectée dans chacune des deux populations.

1. Dans la population 1, quelle est la probabilité qu'un couple d'individus [Rh+] donne naissance à un enfant [M, Rh-] ?
2. Une femme de la population 1 a un frère [Rh-]. Quelle est la probabilité qu'elle soit elle-même [Rh-] ?
3. Si l'on considère qu'il n'y a pas de déséquilibre gamétique entre ces deux loci dans chacune des populations 1 et 2, quelle est la fréquence des gamètes portant les allèles M et Rh+ dans la population 1 ? dans la population 2 ?
4. Une île préalablement déserte est colonisée par 70% d'individus de la population 1 et 30% d'individus de la population 2. Calculez les fréquences gamétiques théoriques et observées dans la population globale constituée par tous les habitants de l'île (gardez trois chiffres après la virgule). Y a-t-il déséquilibre gamétique entre les deux loci dans cette population globale ? Si oui, calculez la valeur de ce déséquilibre gamétique.

#### Exercice 2

Le gène A présente deux allèles, A1 et A2, dans une population naturelle de *Drosophila melanogaster*. L'allèle A1 ne présente aucun site de restriction à l'enzyme BamHI, tandis que l'allèle A2 en possède deux, comme le montre le schéma ci-après (les flèches indiquent les positions des sites de restriction de BamHI).

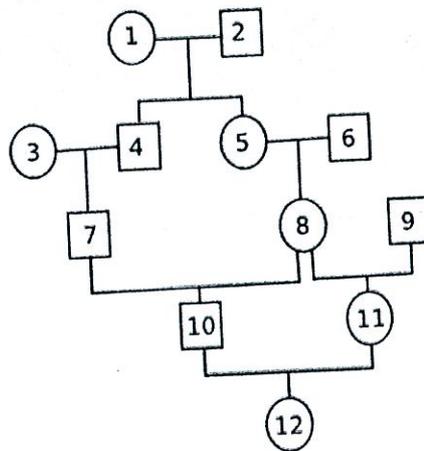


1. Vous disposez de l'ADN génomique d'individus de cette population (extraction sur résine de Chelex). Indiquez les grandes étapes du protocole à suivre pour mettre en évidence le polymorphisme du gène A sur votre échantillon d'individus.
2. A l'issue de votre manipulation, vous visualisez un gel d'électrophorèse. Indiquez les profils attendus pour chaque génotype possible au locus A (vous préciserez la position des amorces de PCR que vous utilisez). Illustrez votre réponse d'un schéma le plus complet possible.
3. Vous comptez 99 individus (A1A1), 102 individus (A1A2) et 49 individus (A2A2). Peut-on considérer que cette population est à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour le gène A ?

### Exercice 3

On considère la généalogie ci-dessous. Les individus 1 et 2 ne sont ni apparentés ni consanguins.

1. Quel(s) est(sont) le(s) individu(s) consanguin(s) dans la généalogie ci-dessous ?
2. Calculez son(leurs) coefficient(s) de consanguinité.



## Sujet de Génétique quantitative

Durée conseillée : 60 mn  
Calculatrice autorisée – documents interdits

Chez la carotte, *Daucus carota*, plante allogame et alimentaire, les propriétés nutritives dépendent pour une partie de leur teneur en caroténoïdes, tels que le  $\beta$ -carotène, précurseur de la vitamine A. Des travaux sont ainsi menés pour estimer le contrôle génétique de la teneur en carotènes. Plusieurs croisements sont réalisés à partir de parents considérés comme homozygotes. Les individus F1 obtenus sont autofécondés pour obtenir la F2 et croisés avec chacun des parents pour donner les back-cross. Des graines des F1 sont conservées afin d'élever cette génération avec les suivantes dans les mêmes conditions environnementales. Les lignées parentales trop sensibles à la consanguinité n'ont pas pu être maintenues. Deux caroténoïdes ont été dosés dans la racine au moment de leur récolte. Les effets d'épistasie sont considérés comme négligeables. Les teneurs en caroténoïdes sont portés dans le tableau suivant :

Génération	Effectif	Teneur en $\beta$ -Carotène		Teneur en Lycopène	
		Moyenne ( $\mu\text{g/g}$ )	Variance	Moyenne ( $\mu\text{g/g}$ )	Variance
F1	95	278,2	149,5	20,4	10,6
F2	98	345,3	208,0	29,7	18,8
BC1	92	396,4	201,0	36,2	17,2
BC2	97	295,2	175,5	23,1	14,5

- Estimez les teneurs des deux caroténoïdes dosés que devraient avoir les lignées parentales cultivées dans les mêmes conditions.
- Etablissez les relations entre les variances génétiques additive  $V_A$  et de dominance  $V_D$  et les variances des générations F1, F2, BC1 et BC2.
- Estimez les effets additifs  $a$  et de dominance  $d$ .
- Définissez l'héritabilité.
- Calculez les variances génétique  $V_A$  et  $V_D$
- Calculez les héritabilités des teneurs des deux caroténoïdes dosés
- Quels points communs majeurs et quelles différences majeures mettez-vous en évidence dans le contrôle génétique des deux caroténoïdes analysés ici dans ces descendance ?

Annexe

Table de  $\chi^2$ .

La table donne, pour une probabilité  $\alpha$  et un nombre de degrés de liberté (d.d.l.) donnés, la valeur  $x$  telle que la probabilité que  $\chi^2$  égale ou dépasse  $x$  vaut  $\alpha$ .

d.d.l.	$\alpha$	0.90	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.001
1		0.016	0.455	1.074	1.642	2.706	3.841	5.412	6.635	10.828
2		0.211	1.386	2.408	3.219	4.605	5.991	7.824	9.210	13.816
3		0.584	2.366	3.665	4.642	6.251	7.815	9.837	11.345	16.266
4		1.064	3.357	4.878	5.989	7.779	9.488	11.668	13.277	18.467
5		1.610	4.351	6.064	7.289	9.236	11.070	13.388	15.086	20.515
6		2.204	5.348	7.231	8.558	10.645	12.592	15.033	16.812	22.458
7		2.833	6.346	8.383	9.803	12.017	14.067	16.622	18.475	24.322
8		3.490	7.344	9.524	11.030	13.362	15.507	18.168	20.090	26.124
9		4.168	8.343	10.656	12.242	14.684	16.919	19.679	21.666	27.877
10		4.865	9.342	11.781	13.442	15.987	18.307	21.161	23.209	29.588
11		5.578	10.341	12.899	14.631	17.275	19.675	22.618	24.725	31.264
12		6.304	11.340	14.011	15.812	18.549	21.026	24.054	26.217	32.909
13		7.042	12.340	15.119	16.985	19.812	22.362	25.472	27.688	34.528
14		7.790	13.339	16.222	18.151	21.064	23.685	26.873	29.141	36.123
15		8.547	14.339	17.322	19.311	22.307	24.996	28.259	30.578	37.697
16		9.312	15.338	18.418	20.465	23.542	26.296	29.633	32.000	39.252
17		10.085	16.338	19.511	21.615	24.769	27.587	30.995	33.409	40.790
18		10.865	17.338	20.601	22.760	25.989	28.869	32.346	34.805	42.312
19		11.651	18.338	21.689	23.900	27.204	30.144	33.687	36.191	43.820
20		12.443	19.337	22.775	25.038	28.412	31.410	35.020	37.566	45.315
21		13.240	20.337	23.858	26.171	29.615	32.671	36.343	38.932	46.797
22		14.041	21.337	24.939	27.301	30.813	33.924	37.659	40.289	48.268
23		14.848	22.337	26.018	28.429	32.007	35.172	38.968	41.638	49.728
24		15.659	23.337	27.096	29.553	33.196	36.415	40.270	42.980	51.179
25		16.473	24.337	28.172	30.675	34.382	37.652	41.566	44.314	52.620
26		17.292	25.336	29.246	31.795	35.563	38.885	42.856	45.642	54.052
27		18.114	26.336	30.319	32.912	36.741	40.113	44.140	46.963	55.476
28		18.939	27.336	31.391	34.027	37.916	41.337	45.419	48.278	56.892
29		19.768	28.336	32.461	35.139	39.087	42.557	46.693	49.588	58.301
30		20.599	29.336	33.530	36.250	40.256	43.773	47.962	50.892	59.703

Exemple : Une variable aléatoire suivant une loi de  $\chi^2$  avec 3 degrés de liberté a une probabilité  $\alpha = 0.90$  d'être égale ou supérieure à 0.584.

**BOTANIQUE**  
**UE BIO2007L**

Epreuve Cours magistral du mardi 29 juin 2010 de 8h00 à 9h30  
Amphithéâtre Grignard

Question 1 : Certaines familles d'Angiospermes sont caractérisées par une inflorescence ou une construction florale particulière. Pouvez-vous en citer trois et décrire leurs caractéristiques propres (texte, diagrammes floraux et/ou dessins) ?

Question 2 : Comment caractériseriez-vous la fleur des Poacées ? Donnez le diagramme floral et les principales particularités de cette famille ?

# BOTANIQUE

## UE BIO2007L

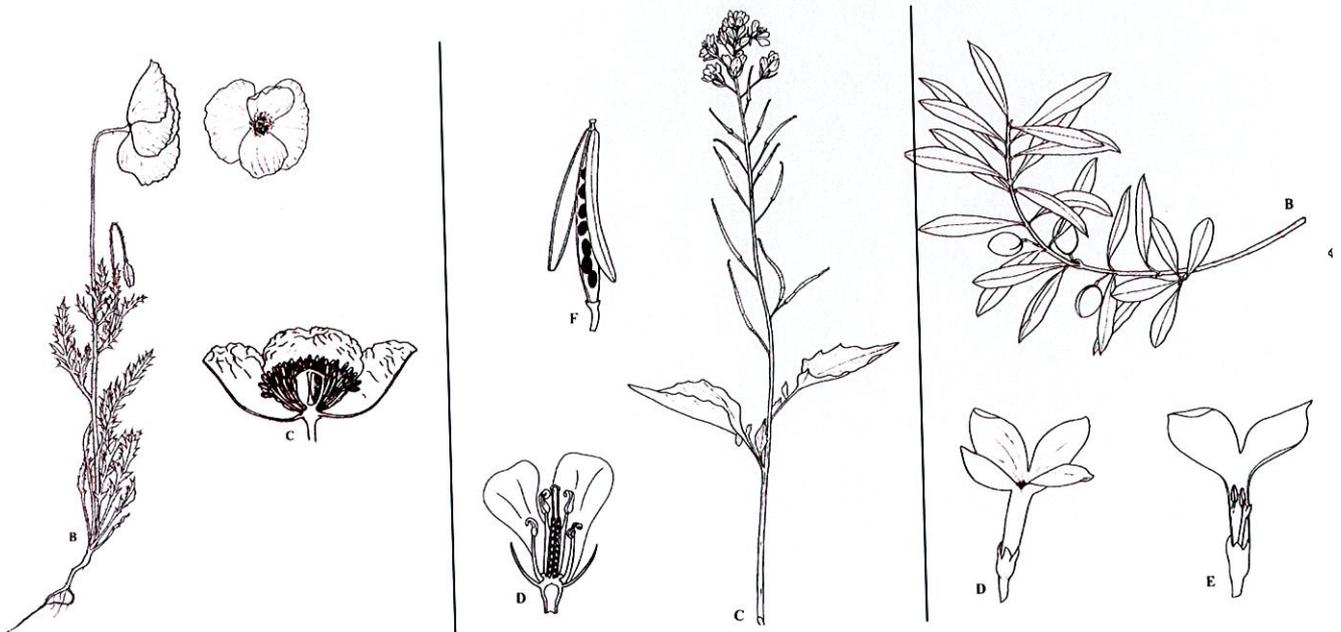
Epreuve Cours magistral du mardi 8 juin 2010 de 8h00 à 10h00  
Thémis 10

### Question 1 :

Illustrez sous forme de dessins ou schémas, la variabilité de l'appareil reproducteur femelle des Angiospermes.

### Question 2 :

A l'aide de caractères discriminants simples, comparez les trois familles suivantes :  
Papavéracées, Brassicacées, Oléacées



Papavéracées

Brassicacées

Oléacées

Université Claude-Bernard Lyon 1

UE BIO2008L

## Génomes, Santé et Evolution

semestre de printemps, 1<sup>ère</sup> session

8 juin 2010

sujet de P. RAVEL-CHAPUIS, 45 minutes

*Les réponses peuvent être brèves tout en étant complètes. Les questions marquées \* sont celles qui nécessitent le plus long développement. Répondre en reprenant le n° des questions. Argumenter.*

### Autismes et polymorphisme génétique humain

(Wang K et al. 2009, Nature, 459, 528-533 ; Glessner et al 2009, Nature, 459, 569-573. Consortium d'équipes des USA)

Les ASD (Autism Spectrum Disorders, incluant l'autisme) représentent un groupe de désordres neuropsychiatriques et de neurodéveloppement de l'enfant, caractérisés par des déficits de communication verbale, des défauts d'interactions sociales et de patrons d'intérêts et de comportements restreints et répétitifs. D'études de jumeaux, il ressort que l'héritabilité est très élevée. La prévalence aux USA est de 0,1-0,2 % pour l'autisme et 0,6 % pour les ASD en général. Afin de découvrir quels peuvent en être les déterminants génétiques, des études de type GWA (*Genome-Wide Association*, associations à l'échelle du génome) ont été menées.

1\*. Décrire le principe d'une étude de type GWA (*une demi à 2/3 de page*).

Une première cohorte (étude AGRE, Table 1) n'a pas fourni d'associations très significatives, une deuxième non plus (étude ACC, Table 1). En réalisant une méta-analyse (combinaison des résultats des deux cohortes), les auteurs ont mis en évidence un SNP très significatif.

2. définir ce qu'est un SNP.

3. définir la P value (l'un des paramètres des études de GWA, Table 2 et Figure).

4. au cours des études AGRE et ACC, les auteurs ont retenu quelques SNP (Table 2), mais ils ne les estiment pas assez significatifs à cette étape : pour quelle raison ? Comment expliqueriez-vous cet échec ?

5. après la méta-analyse, les auteurs concluent qu'un SNP atteint le niveau de signification fiable des études de GWA. Quel SNP est le plus intéressant, pourquoi ?

6\*. Décrire les résultats de la Figure (parties a et b), conclusions. Autres SNP potentiellement intéressants ?

7. ensuite, les auteurs réalisent deux études de réplication (CAP et CART, Tables 1 et 2). Définir ce qu'est une étude de réplication. Commentez leurs colonnes de P values (Table 2).

8. table 2 dernière colonne et figure (c) : combinaison de l'ensemble des résultats des 4 cohortes. Conclusions.

9\*. Table 2 : commenter les colonnes 3, 4 (MAF, Minor Allele Frequency) et 7 (OR, Odds Ratio). Explications des paramètres, conclusions, commentaires... Analyser d'abord les SNP rs7704909 et rs10038113, puis généraliser.

10. les gènes CDH9 et CDH10 codent pour des cadhérines, protéines d'adhérence cellulaire. Une étude d'hybridation *in situ* montre que CDH10 est exprimé dans le cortex du cerveau fœtal humain. D'autres résultats du même article et ceux d'autres équipes font apparaître des associations de SNP avec, entre autres, les gènes de la famille des neurexines et des neuroligines (protéines d'adhérence synaptiques). Commentaires.

11. le deuxième article de Nature décrit des résultats d'association des ASD avec un autre type de polymorphisme humain (dont un gène de neuroligine) : lequel, commentaires ?

12\*. quelles réflexions (éthiques...) vous inspirent les perspectives ouvertes par ce genre d'étude, pour des maladies psychologiques comme l'autisme, ou d'un point de vue plus général ?

**Table 1 | Description of the four data sets used in the study**

Data set	Purpose	Study design		Measurements		Subjects	
		Cases	Controls	Cases	Controls	Families	Total
AGRE	Discovery	1,299	6,491	550K	780	3,101	
ACC	Discovery	1,204	6,491	550K	780	7,695	
CAP*	Replication	504	540	1M	447	1,390	
CART	Replication	108	540	300K		648	

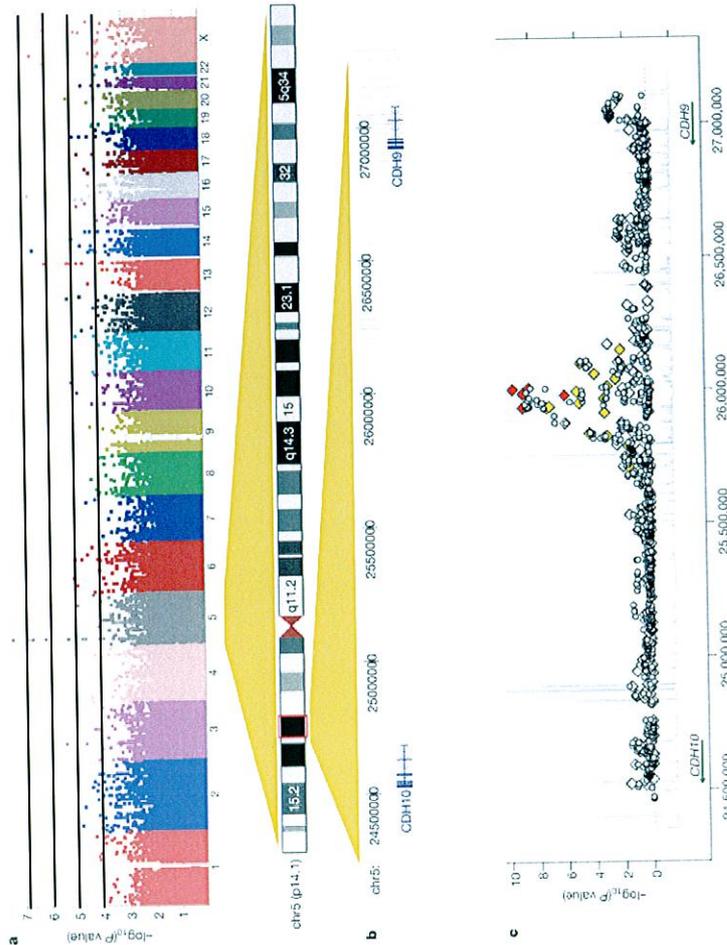
**Table 2 | The most significantly associated SNPs**

SNP	Position*	Discovery cohorts		P value (AGRE)	P value (ACC)	Odds ratio† (ACC)	P value (discovery cohorts)	Replication cohorts		P value (combined)
		Minor/major allele*	MAF (AGRE)					P value (AGRE)	P value (CAP)	
rs4307099	26003460	C/T	0.38	$1.1 \times 10^{-5}$	$2.2 \times 10^{-4}$	1.19	$3.4 \times 10^{-8}$	$1.2 \times 10^{-2}$	$1.6 \times 10^{-2}$	$2.1 \times 10^{-10}$
rs7704965	25934678	C/T	0.39	$1.6 \times 10^{-5}$	$6.2 \times 10^{-4}$	1.17	$1.4 \times 10^{-7}$	$9.1 \times 10^{-3}$	$4.0 \times 10^{-2}$	$9.9 \times 10^{-10}$
rs12518194	25987318	G/A	0.39	$1.3 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-3}$	1.16	$2.0 \times 10^{-7}$	$9.3 \times 10^{-3}$	$1.8 \times 10^{-2}$	$1.1 \times 10^{-9}$
rs4327572	26006578	T/C	0.39	$2.2 \times 10^{-5}$	$2.0 \times 10^{-3}$	1.15	$6.2 \times 10^{-7}$	$7.3 \times 10^{-3}$	$1.5 \times 10^{-2}$	$2.7 \times 10^{-9}$
rs1896731	25934777	C/T	0.34	$1.7 \times 10^{-3}$	$1.7 \times 10^{-3}$	0.87	$1.7 \times 10^{-5}$	$7.7 \times 10^{-5}$	$9.9 \times 10^{-1}$	$4.8 \times 10^{-8}$
rs10038113	25938099	C/T	0.40	$1.4 \times 10^{-3}$	$2.4 \times 10^{-3}$	0.87	$2.1 \times 10^{-5}$	$2.8 \times 10^{-5}$	$4.5 \times 10^{-1}$	$7.4 \times 10^{-8}$

\* The chromosome coordinates and allele designation are on the bases of the forward strand of the NCBI 36 genome assembly.

† The minor allele frequencies (MAF) are calculated on the basis of AGRE parents of European ancestry.

‡ The odds ratio is calculated with respect to the major allele.



**Table 1 Effectif des groupes étudiés**

L'étude dite AGRE a porté sur 3101 personnes dont 1299 sujets ASD (colonne Cases), issues de 780 familles. Cette étude et celle nommée ACC ont conduit à la découverte des marqueurs SNP de la Table 2 (Discovery).

550K, 1M, 300 K = nombre de SNP analysés dans chaque étude (550 000, un million...)

**Table 2 SNP retenus au niveau des différentes études des phases "Discovery" et Réplication.**

Les SNP sont désignés par "rs" suivi d'un numéro.

Les OR (odds ratio) sont calculés pour l'allèle majeur.

**Figure Résultats de la GWA**

**combinaison des cohortes AGRE et ACC :**

- a) en abscisse, n° des chromosomes, en ordonnées, log des P values. en jaune, agrandissement de certaines régions.
- b) région du génome concernée, entre les positions 24 500 000 et 27 000 000 ; les barres bleues sont des exons, transcription de droite à gauche.

**combinaison des 4 cohortes :**

- c) ensemble des SNP étudiés, position et log de leur P value. (Ne pas tenir compte des différents symbolismes, ni du diagramme bleu.)

## UE ECOLOGIE GENERALE

B102009 L

SUJET Sonia CZARNES, juin 2010, session 1, durée : ~~15~~<sup>25</sup> minutes (coef 1)

1 - Définir de façon précise et complète (en 3 lignes maximum) les termes suivants :

- Texture d'un sol
- Structure d'un sol

2 - Citer les classes fondamentales de texture d'un sol et donner, pour chaque classe, les relations avec les propriétés physiques et chimiques d'un sol.

*Traitez les 2 sujets sur 2 copies séparées*

## UE ECOLOGIE GENERALE

SUJET MARC PHILIPPE, juin 2010, session 1, durée : environ ~~1h10~~ <sup>1h30</sup>, coef 4

Dans un article intitulé "Modèles de stratégie reproductrice chez les Scorpions ; corrélation avec des centres d'endémisme dans la région néotropicale" Wilson R. Lourenço étudie les faunes de scorpions néotropicales. On peut résumer ainsi ses observations :

- a) Les espèces appartenant aux groupes phylogénétiques anciens sont pour la plupart du type **K** ;
- b) A l'inverse les espèces stratèges de type **r** appartiennent pour la plupart à des genres apparus récemment ;
- c) Les espèces de type **K** sont trouvées surtout dans des formations climaciques, au niveau des centres d'endémisme ayant joué le rôle de refuge lors des fluctuations climatiques du Quaternaire ;
- d) Les stratèges de type **r**, ou voisins de **r**, sont retrouvés aussi bien dans les zones refuges que dans des zones ayant beaucoup fluctué entre forêt et savane ;
- e) Dans les régions fortement perturbées (volcans, activités humaines) les stratèges **K** disparaissent au profit des stratèges **r**, qui y manifestent deux tendances majeures – 1) un élargissement de leur spectre écologique voire une colonisation d'habitats nouveaux – 2) une valeur de **r** élevée, avec parfois apparition de parthénogenèse, et/ou d'explosions des effectifs.

### Questions :

- 1) Définir la région néotropicale ; citez quelques groupes systématiques caractéristiques.
- 2) Lesquels de ces domaines d'étude sont abordés dans le texte : autécologie ; synécologie ; biogéographie ; démographie ; biodiversité ; écologie synusiale ? Justifiez brièvement vos réponses.
- 3) Les stratégies **r** et **K** sont définies à partir d'un couple d'équations. Donnez ces équations ainsi qu'une figure simple pour les illustrer.
- 4) Que sont des formations climaciques ? D'après le texte, que peut-on dire de la diversité phylogénétique des scorpions de ces formations par rapport à celle des zones ayant fluctué ?
- 5) Quelles hypothèses peut-on formuler pour expliquer les observations du e) ?

UE Ecologie générale BIO2009L. Travaux pratiques de biologie végétale.  
Mercredi 9 juin 2010

**Question 1 (8 points)**

- Citez 1 plante caractéristique (nom latins ou vulgaire) de chacun des deux sites échantillonnés à la sortie de Chasselay ; citez une plante indifférente (= 3 plantes à citer en tout).
- Donnez les exigences écologiques des deux plantes caractéristiques précitées.
- Réalisez un tableau montrant, pour les deux sols, une caractéristique commune et deux différentes.

**Question 2 (5 points)**

- Définir une aire minimale, précisez de manière explicite sa méthode d'élaboration depuis le terrain jusqu'à l'interprétation.
- Donnez et expliquez trois courbes différentes.

**Question 3 (7 points)**

- Définir le coefficient de communauté floristique.
- Construire un tableau de données brutes avec 6 relevés de végétation constitués chacun de 6 espèces, sachant que :
  - 2 relevés sont très différents entre eux ;
  - 2 autres relevés possèdent entre eux des affinités moyennes ;
  - 2 autres relevés possèdent entre eux des affinités très fortes.
- Calculez le coefficient de communauté floristique pour les trois seules situations précédentes et placez les dans un tableau.

Université Claude-Bernard-Lyon I

**UE d'Embryologie et Biologie du Développement**

BIO2010L

22 janvier 2010

Contrôle Terminal (session unique) portant sur le cours et les TD : **1 h 30**

*Rappels : mieux vaut un ou des schémas bien légendés et annotés qu'un long texte sans illustration. Toutes les réponses doivent être argumentées.*

*Répondre en reprenant le n° des questions.*

*© question de cours (éventuellement vue en TD), 12 points/20*

**1. © Les gènes homéotiques (temps conseillé : 30')**

Dans le temps imparti, en vous appuyant sur le cours et les TD, expliquez ce que sont ces gènes et le rôle qu'ils jouent dans les phénomènes développement.

Plan possible, à compléter : définition (mutations), évolution en comparant les gènes HOM-C de drosophile et les gènes Hox de vertébrés, domaines d'expression, rôles, relations entre les gènes etc...

**2. L'induction du mésoderme chez le Xénope : rôle du gène Sizzled (Szl)**

Chez la blastula de Xénope, une phase de la programmation des cellules de sa zone marginale (ZM) repose sur des interactions entre les protéines Chordine, Follistatine et Noggin issues de sa région dorsale (ZMD) et des protéines BMP (BMP2, BMP4 et BMP7) issues de sa région ventrale (ZMV). Nous avons également rencontré, brièvement, la protéine Xolloid-related (Xlr), une protéinase spécifique d'une certaine protéine ; le gène Xlr est activé par BMP dans la ZMD, la protéine Xlr est sécrétée et diffusible.

**2.1** © décrivez ce que vous savez au sujet des gènes et des protéines BMP et Chordine chez le Xénope. (10 lignes)

**2.2** © en vous appuyant sur la Figure 1, faites des commentaires d'Evo-Devo (Evolution des gènes du Développement). (5 lignes)

**2.3** Nous allons ajouter à cet ensemble le gène Sizzled (Szl) qui code pour une protéine sécrétée. A l'issue des questions qui suivent, vous aurez à placer ce nouvel acteur dans le contexte que vous connaissez.

On détermine le domaine d'expression des protéines Chordine et Sizzled

• Figure 2 : comment localise-t-on des protéines ? Où est exprimé Sizzled ?

**2.4** On injecte des ARNm Szl dans les blastomères d'embryons au stade 2 (Figure 3).

• quel est l'effet d'une surexpression de Szl ? Où s'exerce-t-il ?

**2.5** On injecte dans les blastomères d'embryons au stade 2 des ARN antisens (AS) courts (nommés MO), qui inhibent la traduction des ARNm ciblés (= Knockdown, **KD**), puis on examine le domaine d'expression des ARNm Szl au stade jeune têtard (Figure 4).

• 2.5.1 © par quel mécanisme un ARN AS inhibe-t-il la traduction de l'ARNm (schéma légendé) ? Quel est le nom de la technique utilisée pour localiser un ARNm ? Décrire son principe (une dizaine de lignes).

- 2.5.2 où est exprimé le gène Szl au stade jeune têtard ? Quel est l'effet phénotypique de l'élimination des protéines Chd et Szl sur son expression ? (*Ne pas interpréter à ce niveau, voir 2.8.2*).

## 2.6 Etudes moléculaires 1 : relations entre Szl, BMP et la Chordine

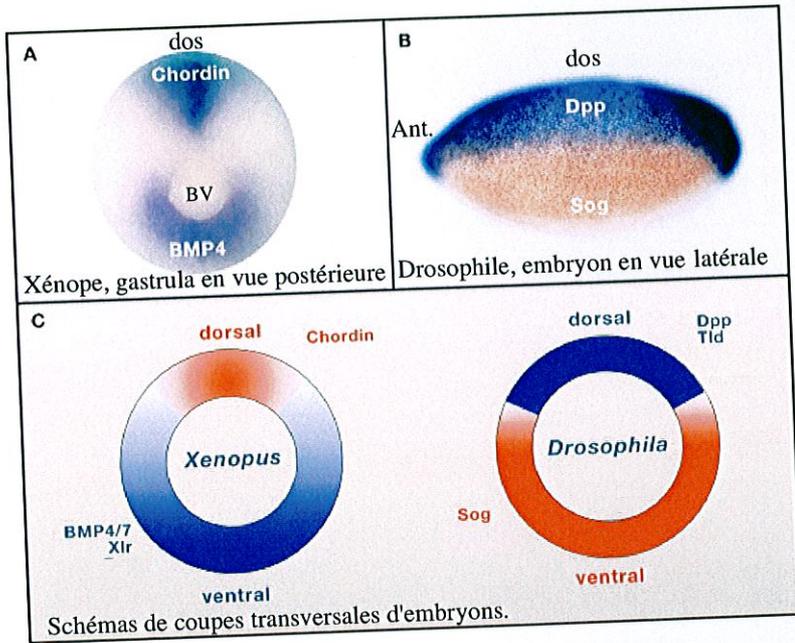
- 2.6.1 Figure 5A : quel est l'effet du KD de Szl et des trois BMP (2, 4 et 7) de la ZMV au niveau de la Chordine ? Conclusions.
- 2.6.2 © les protéines Smad et  $\beta$ -caténine sont impliquées dans une fonction cellulaire universelle : quelle est-elle ? Décrire brièvement cette implication et leur rôle (*cinq lignes et schémas légendés*).
- 2.6.3 Figure 5B, puits 2 et 3 : interpréter ; puits 4 et 5 : interpréter, quel effet a l'absence de la protéine Szl ou sa surexpression ? Conclusions ?  
Qu'indiquent les résultats concernant la protéine  $\beta$ -caténine ?

## 2.7 Etudes moléculaires 2 : relations entre Szl et Xlr

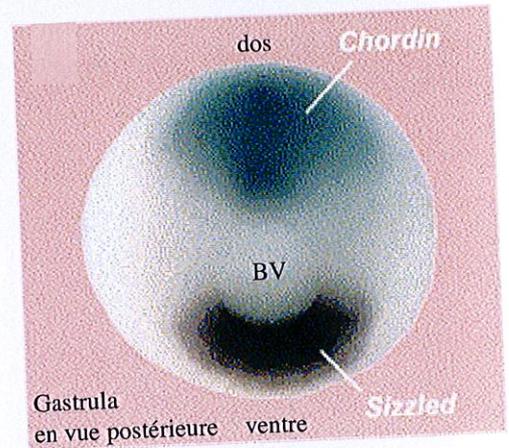
- 2.7.1 On fixe des protéines Szl sur des microbilles, le tout étant incubé avec des protéines Xlr ou Chordine. L'expérience est décrite dans la légende de la figure 6A. Que conclure ?
- 2.7.2 On incube Xlr avec la Chordine, en absence ou en présence de Sizzled (Figure 6B). Que conclure quant au rôle de Xlr et à celui de Szl ?  
Intégrer les conclusions tirées des figures 6A et 6B.

## 2.8 Conclusions

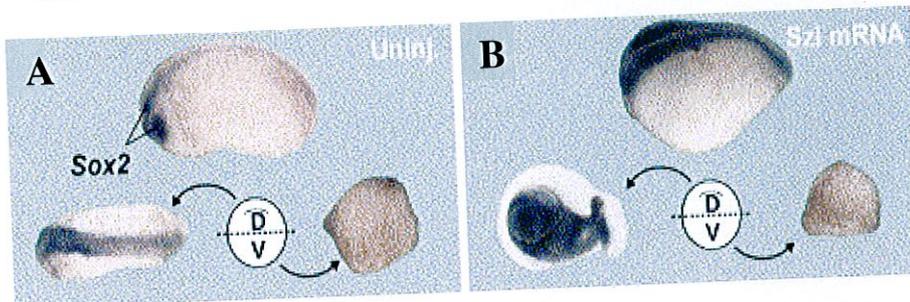
- 2.8.1 Les expériences de la Figure 6 donnent des indices quant au mode d'action de Sizzled dans la cascade d'événements qui structurent la Zone Marginale  
Proposez un modèle de relation entre les protéines BMP, Sizzled, Xolloid-related, Smad et Chordine dans la ZM, sachant que BMP active la transcription de Szl.  
Faire un schéma légendé en utilisant des flèches  $\rightarrow$  pour symboliser une "activation" et  $\dashv$  pour symboliser une "inhibition".
- 2.8.2 Dans le cadre de votre modèle, comment peut-on maintenant expliquer les résultats des figures 4B et 4C ?



**Figure 1** Xénope et drosophile, domaines d'expression des gènes BMP/Dpp et Chordine/Sog, ainsi que Xlr et Tld, sont des paires de gènes orthologues.  
BV = bouchon vitellin  
C : schématisation des domaines d'expression des gènes orthologues.

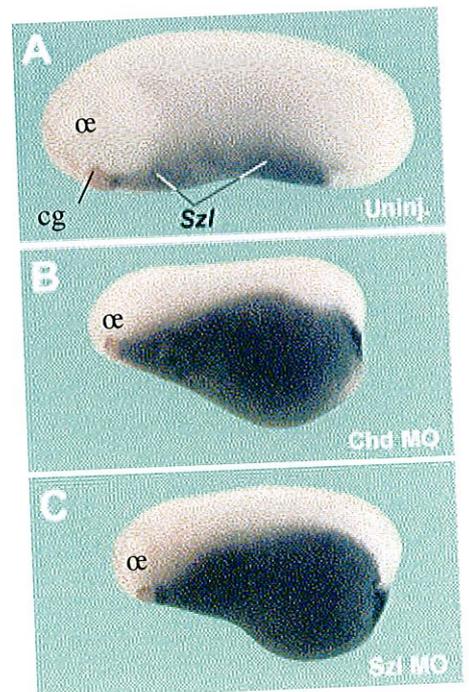


**Figure 2** Domaine d'expression des protéines Chordine et Sizzled



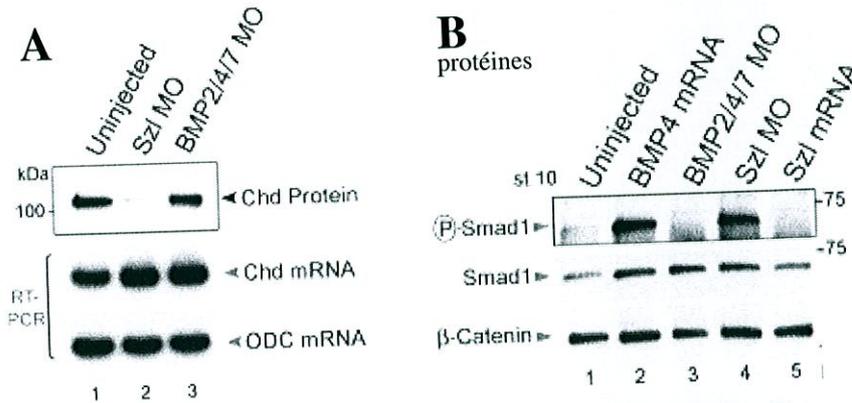
**Figure 3** Surespression du gène Szl

On injecte dans les blastomères d'embryons au stade 2 des ARNm Szl (B) et on compare à un témoin non injecté (A, Uninj.) l'expression du gène Sox2 (ARNm), un marqueur du neur ectoderme dans son ensemble.  
Première expérience, rangée supérieure : neurulas âgées, vue latérale, tête à gauche.  
Deuxième expérience, rangée inférieure : à un stade à la limite blastula-gastrula, les embryons sont coupés en une moitié dorsale D qui contient l'encoche blastoporale (arc de cercle) et une moitié ventrale V ; on laisse se développer.



**Figure 4** Elimination des protéines Chordine ou Szl

On injecte dans les blastomères d'embryons au stade 2 des ARN AS (MO) et on détermine la localisation des ARNm Szl.  
Jeunes têtards en vue latérale. œ = œil, cg = ciment gland (une structure qui permet au têtard de se coller à des supports)  
A témoin non injecté (Uninj.)  
B injection d'ARN MO anti Chordine  
C injection d'ARN MO anti Szl

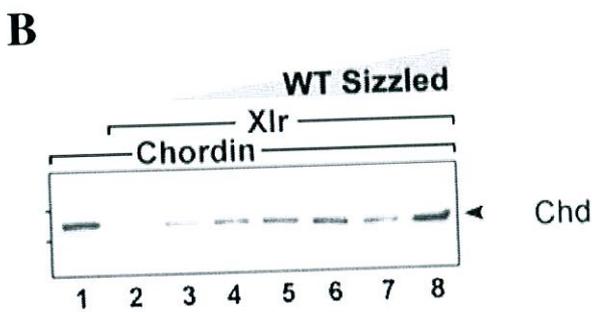
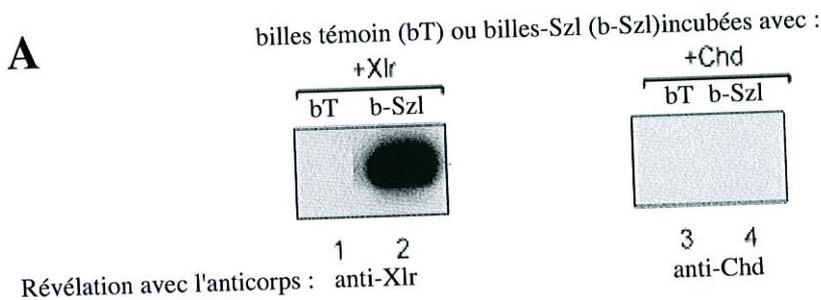


**Figure 5 Etudes moléculaires 1 : relations entre Szl, BMP et la Chordine**

**A.** On injecte au stade 2 les ARN MO indiqués au-dessus des puits. Au stade gastrula, on dissocie les embryons et on met les cellules en culture. On mesure les quantités de protéines Chordine secrétées dans le milieu et les ARNm présents dans les cellules. On examine les protéines par Western, et les ARNm par PCR. ODC est un ARNm témoin (charge). Puits 1 : témoin, pas d'injection.

**B.** On injecte au stade 2 les ARN indiqués au-dessus des puits 2 à 5, et on observe les protéines Smad1 et β-caténine au stade jeune gastrula.

Smad1 est la protéine non activée. La Phospho-Smad1 (P-Smad, bandes supérieures) est la forme active de la protéine.



**Figure 6 Etudes moléculaires 2 : relations entre Szl et Xlr**

**A.** On fixe des protéines Szl sur des microbilles d'un polymère de polysaccharide inerte (b) ; ces billes sont faciles à centrifuger. Témoins : les puits 1 et 3 résultent d'expériences faites avec des billes sur lesquelles on n'a pas fixé de protéine Szl (bT).

On incube les billes bT ou b-Szl avec des protéines Xlr (puits 1 et 2) ou Chd (puits 3 et 4). On centrifuge et on lave bien plusieurs fois pour éliminer toutes les protéines fixées non spécifiquement sur les billes ; puis on détache les protéines fixées sur les billes, et on les passe en électrophorèse. On fait un Western que l'on révèle avec un anticorps Anti-Xlr (puits 1 et 2) ou anti-Chd (puits 3 et 4).

Des témoins ont été enlevés pour simplifier la figure.

**B.** On incube ensemble *in vitro* les protéines Chordine et Xlr (puits 2) ou Chordine, Xlr et des quantités croissantes de protéines Sizzled (puits 3 à 8). En fin d'incubation, on analyse la présence de la protéine Chordine en Western.

Puits 1 = témoin, chordine seule.

**UE Génétique 2**  
**Epreuve de TP/TD**

B102013C

**Sujet de Génétique non mendélienne**  
**Durée 1h00 - calculatrice autorisée, documents interdits**

Vous traiterez les deux exercices avec concision (attention le sujet est recto-verso !)

- |   |                     |
|---|---------------------|
| A | temps prévu : 20 mn |
|   | Q1 2 pts            |
|   | Q2 3 pts            |
|   | Q3 3 pts            |
| B | temps prévu : 40 mn |
|   | Q1 2 pts            |
|   | Q2 6 pts            |
|   | Q3 4 pts            |

**exercice A-**

Chez la drosophile, le gène autosomal *nanos* est transcrit pendant l'ovogenèse. L'ARNm accumulé est stocké dans la région postérieure de l'ovocyte, et est traduit juste après la fécondation. La protéine NANOS contrôle la formation des structures postérieures de l'embryon. Une mutation dans le gène *nanos* conduit à un embryon non viable, avec des défauts de la partie postérieure.

**Q1** – Quelle est la principale caractéristique d'un tel gène et de la mutation qui l'affecte ? Commentez brièvement votre réponse.

**Q2** – Ecrivez les génotypes et phénotypes des descendants issus du croisement entre une femelle mutante pour *nanos* et un mâle sauvage, tous deux homozygotes.

**Q3** – Même question avec le croisement réciproque.

**TOURNEZ SVP (1/2)**

exercice B-

Le virus sigma appartient à la même famille que le virus de la rage. Il interfère avec le métabolisme des ganglions nerveux de son hôte, *Drosophila melanogaster*, et la rend hypersensible au CO<sub>2</sub> : exposées brièvement à une atmosphère contenant 10% de CO<sub>2</sub> les drosophiles hypersensibles sont paralysées et meurent rapidement. Depuis les années 1960, il a été montré que ce virus

- n'intègre pas son génome à celui des cellules infectées
- n'est pas transmis horizontalement
- est à transmission transovarienne (via les ovocytes puis les ovules).

Q1 – Définir à votre choix soit la transmission transovarienne, soit la transmission infectieuse.

Q2 – à partir d'une lignée pure de drosophile, dont tous les individus sont porteurs du virus sigma, comment vérifier la transmission du virus ?

Préciser les croisements et les tests nécessaires, ainsi que les résultats attendus, sachant que vous disposez de la Souche Sauvage de Référence (SSR) non contaminée.

Pour suivre la progression du virus sigma dans les populations naturelles, des drosophiles sont capturées chaque automne en divers points fixes du Languedoc. Chaque femelle capturée est mise à pondre, et on teste l'hypersensibilité au CO<sub>2</sub> des descendants.

Avec chaque mâle capturé on réalise le croisement (mâle capturé x femelle vierge SSR non infectée) et on mesure l'hypersensibilité au CO<sub>2</sub> des individus de la F1. Voici quelques résultats pour un site donné du Languedoc :

année 1970		année 1979		année 1989		année 1996	
fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)
n° 1	0	n° 1	100	n° 1	100	n° 1	100
n° 2	0	n° 2	0	n° 2	100	n° 2	100
n° 3	0	n° 3	100	n° 3	100	n° 3	100
n° 4	0	n° 4	100	n° 4	100	n° 4	100
n° 5	0	n° 5	100	n° 5	100	n° 5	100
mâle	b (%)	mâle	b (%)	mâle	b (%)	mâle	b (%)
n° 1	0	n° 1	0	n° 1	9	n° 1	22
n° 2	0	n° 2	0	n° 2	5	n° 2	18
n° 3	0	n° 3	12	n° 3	7	n° 3	12
n° 4	0	n° 4	0	n° 4	11	n° 4	35
		n° 5	7	n° 5	6	n° 5	26

a : est le pourcentage d'individus hypersensibles dans la descendance des femelles capturées et mises à pondre

b : est le pourcentage d'individus hypersensibles dans la F1 issu du croisement

F1 = (mâle capturé x femelle vierge SSR non infectée)

Q3 – Que constatez-vous ? pour les femelles ? pour les mâles ?  
Quel(s) situation(s) nouvelle(s) se met(tent) en place dans cette population ?

(2/2) fin

**UE Génétique 2**  
**Epreuve de Cours Magistral : Ecrit**  
**Sujet de Génétique des Populations & Génétique quantitative**

Durée 1h30 - calculatrice autorisée, documents interdits

**Partie 1**

a) Enoncer la loi de Hardy-Weinberg dans le cas d'un gène A comportant 3 allèles A1, A2, A3 ainsi que toutes les conditions d'application de cette loi.

b) Dans une population, les effectifs génotypiques suivants ont été observés :

A1A1 = 174    A2A2 = 37    A3A3 = 25    A1A2 = 119    A1A3 = 103    A2A3 = 42

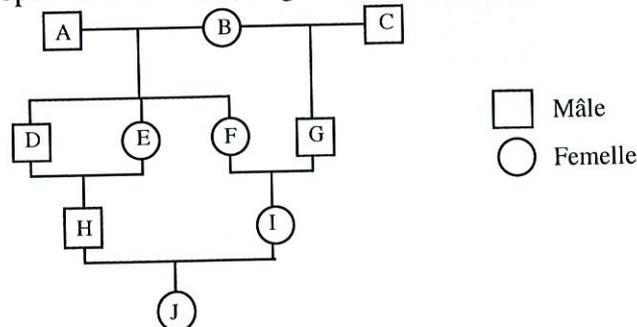
Cette population est-elle à l'équilibre de Hardy-Weinberg ?

On donne :  $\chi^2$  seuil : 1ddl=3,84    2ddl=5,99    3ddl=7,81    4ddl=9,48    5ddl=11,07    6ddl=12,59

c) En terme d'expression phénotypique, A1 est dominant sur A2 et A3 alors que A2 est dominant sur A3. En justifiant votre réponse, déterminez combien de phénotypes différents observera-t-on dans cette population. Quelle est la probabilité d'observer un descendant A3A3 au sein d'un couple dont l'un des parents est porteur de l'allèle A1 et sachant que ces deux individus sont issus d'une population panmictique (exprimez votre résultat en fonction des fréquences alléliques p, q et r ; pas d'application numérique demandée)

**Partie 2-** En justifiant votre réponse, indiquer quels sont les effets de la consanguinité sur :

- La diversité allélique
- Le taux d'hétérozygotie observé
- Le taux d'hétérozygotie théorique
- L'expression phénotypique des allèles récessifs
- Dans une population de chats, la généalogie suivante a été observée:



Calculez le coefficient de consanguinité de tous les individus consanguins de la généalogie pour un locus autosomique. Chaque type d'individu consanguin ayant une fréquence de 20% dans la population, calculez le coefficient de consanguinité moyen (F) de cette population.

**Partie 3-** La covariance génétique entre individus apparentés  $i$  et  $j$  est une mesure de leur ressemblance due au partage de gènes en commun. Elle est directement reliée aux variances additive  $V_a$  et de dominance  $V_d$  par la relation :  $CovG(ij) = R_{ij} V_a + S_{ij} V_d$

- a) Quelle est la signification des paramètres  $R_{ij}$  et  $S_{ij}$  ?
- b) Calculer la valeur de ces paramètres  $R_{ij}$  et  $S_{ij}$  dans le cas d'un apparentement entre demi-frère (ou demi-sœurs).
- c) Que deviennent ces valeurs dans le cas d'un apparentement entre jumeaux monozygotes ?
- d) Vous disposez de données mesurant la ressemblance phénotypique sur un trait quantitatif entre demi-frères d'une part ou entre jumeaux monozygotes d'autre part. Quel type d'apparentement choisiriez-vous pour mesurer l'héritabilité du caractère quantitatif (justifier votre réponse). Dans quel environnement familial devraient avoir grandi les individus pour que votre estimation soit la meilleure possible (justifier)?
- e) Expliquer par un graphique la notion d'interaction génotype-environnement. Quel type d'apparentement (demi-frère/sœurs ou jumeaux monozygotes) pourrait être le plus utile pour mettre en évidence ces interactions ? Justifier votre réponse.

## UE Génétique 2

### Examen de Cours

2 sujets à rédiger sur 2 copies séparées  
Documents interdits, calculatrices autorisées

### Sujet de Génétique non mendélienne

(durée conseillée une heure)

On dispose de deux lignées pures de souris dites 'souris noire' et 'souris blanche'.  
Sont réalisés les croisements suivants :

- a - mâle 'souris noire' x femelle 'souris blanche'
- b - mâle 'souris blanche' x femelle 'souris noire'

Les deux croisements donnent en F1 100% de souris de phénotype 'souris noire'.

1) Qu'en concluez-vous ?

Justifiez votre réponse en écrivant les génotypes et phénotypes des parents et descendants. Au besoin, vous écrirez ces génotypes à l'aide d'hypothèse(s) simple(s) que vous exposerez.

Les techniques de micro injection de noyaux dans des ovules ou ovocytes énucléés sont bien maîtrisées chez la souris; la réimplantation des zygotes ainsi obtenus permet d'en suivre le développement chez des mères porteuses.

Sont réalisées des séries d'injection - réimplantation de noyaux d'ovules ou de spermatozoïdes selon le tableau suivant :

	Série	a	b	c	d
Souris noire	Noyau ovule	1			
	Noyau spermatozoïde		1		
Souris blanche	Noyau ovule	1	1	2	1
	Noyau spermatozoïde				1

Les résultats obtenus sont identiques selon que ces noyaux sont injectés dans des ovules énucléés de la lignée 'souris blanche' ou de la lignée 'souris noire'.

2) Pour chaque série (a, b, c, ou d) de zygotes ainsi constitués, caractériser au mieux les génotypes, phénotypes, et sexes des souriceaux que vous vous attendez à obtenir. Justifiez vos réponses.

On réalise des séries d'injection - réimplantation sur le modèle : noyau d'ovocyte 'souris noire' dans un ovule énucléé 'souris blanche'.

3) Caractériser au mieux les génotypes, phénotypes, et sexes des souriceaux que vous vous attendez à obtenir. Justifier vos réponses.

A partir de la lignée sauvage 'souris noire' est construit un double mutant : une mutation sur le locus Igf2-H19 (sur le chromosome 7) et une mutation sur le locus Dlk1-GT12 (sur le chromosome 12). L'injection de noyaux d'ovocytes de cette lignée double mutante dans des ovules énucléés de 'souris blanche' donne, après réimplantation, des souriceaux viables.

4) Quelle peut être la fonction des locus Igf2 et Dlk1 ?

5) Les deux locus mutés (Igf2-H19 et Dlk1-GT12) n'ont pas d'effet sur les génotypes, les phénotypes, et le sexe des souriceaux.  
Comment se distribuent ces 3 caractères dans la descendance ?

Les questions sont indépendantes.

## Sujet de Génétique des Populations & Génétique Quantitative

*Durée conseillée 1h00*

**Question 1 :** Le gène TLR4 (Toll Like Receptor 4) est un des éléments importants de l'immunité innée d'un grand nombre d'espèces dont l'Homme. Il code pour un récepteur présent à la surface de certains leucocytes (monocytes, macrophages, cellules dendritiques). Ce récepteur reconnaît des motifs moléculaires conservés chez de nombreux pathogènes (bactéries Gram négative, mycobactéries, certains champignons ou des protozoaires parasites comme *Plasmodium*, l'agent de la malaria). Une fois ces motifs reconnus, l'activation des récepteurs TLR4 entraîne le déclenchement de la réponse immunitaire notamment la production de cytokine. Compte tenu de son implication dans la lutte contre les pathogènes, le gène TLR4 est supposé subir de nombreuses pressions de sélection avec un polymorphisme variable entre populations en fonction des risques d'infections. Chez l'Homme, deux mutations non-synonymes ont été décrites : une transition A/G responsable d'un polymorphisme Acide Aspartique/Glycine en position 299 de la protéine (allèles 299Asp et 299Gly au locus 299) et une transition C/T responsable d'un polymorphisme Thréonine/Isoleucine en position 399 (allèles 399Thr et 399Ile au locus 399). Dans une étude comparant des populations humaines africaines et indo-européennes, Ferwerda *et al.* (PNAS 2007) ont observé les résultats suivants :

**Composition en Haplotypes aux Pays-Bas:** 299Asp/399Thr = 194      299Asp/399Ile = 0  
299Gly/399Thr = 0      299Gly/399Ile = 15

**Composition en Génotypes dans la Tribu des Fulani (Afrique de l'Ouest):**

299Asp/299Asp = 177      299Asp/299Gly = 51      299Gly/299Gly = 5  
399Thr/399Thr = 230

- Calculer les fréquences alléliques aux loci 299 et 399 dans chacune des deux populations. Quels est (sont) le(s) locus monomorphe ?
- Quelles conditions doivent être respectées pour que la composition génotypique de ces populations suive la loi de Hardy-Weinberg. Lorsque c'est possible, déterminer à l'aide d'un test statistique si cet équilibre est effectivement réalisé.
- Qu'appelle-t-on déséquilibre gamétique ? En existe-il dans cette étude, et si c'est le cas, calculez-en la valeur.
- Les auteurs affirment que les états alléliques ancestraux de ces 2 loci sont 299Asp et 399Thr. Donner des arguments qui justifient cette affirmation.

- e) Les auteurs proposent que les fréquences alléliques observées sont le résultat de l'action de la sélection et de la dérive génétique. Donner une définition précise de ces 2 processus en expliquant bien leurs effets sur l'évolution de la composition génétique d'une population.
- f) En Afrique, l'allèle 299Gly est impliqué dans la résistance à la malaria alors qu'en Europe il confère une plus forte sensibilité aux chocs septiques, entraînant une mortalité accrue en cas d'infection bactérienne. Faites une représentation graphique schématique de la valeur sélective moyenne des différents génotypes à ce locus en fonction de la localisation des individus (Afrique vs Europe). On supposera une relation de codominance stricte entre allèles. Quel concept important illustre-t-il ? La composition génétique des populations est-elle en accord avec ce qui est attendu ?

**Question 2 :**

- a) En génétique quantitative, expliquer le principe général permettant d'estimer l'héritabilité d'un caractère puis donner un exemple de protocole expérimental mettant en oeuvre ce principe de base.
- b) La covariance génétique entre des individus  $i$  et  $j$  se décompose de la façon suivante :

$$\text{Cov}_G(i,j) = \Phi V_A + \Psi V_D.$$

Quelle est la signification des paramètres  $\Phi$ ,  $\Psi$ ,  $V_A$  et  $V_D$  ? Calculer la valeur de  $\Phi$  et  $\Psi$  dans le cas d'un apparentement entre frères (ou sœurs) en expliquant bien les détails du raisonnement.

- c) Dans des élevages de Perdrix, on a pu estimer que la covariance génétique de la taille des pontes entre soeurs est en réalité deux fois inférieure à la covariance phénotypique observée. Qu'en concluez-vous ?

**Valeur Chi deux seuil à 5% :**

1ddl=3,84    2ddl=5,99    3ddl=7,81    4ddl=9,49    5ddl=11,07

## UE Génétique 2

### Examen de TD/TP

2 sujets à rédiger sur une copie séparée

## Sujet de Génétique des Populations

Durée conseillée 1h00

Documents interdits, calculatrices autorisées

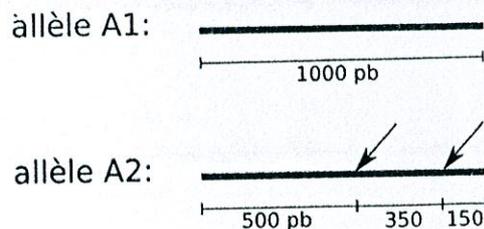
### Exercice 1

On considère les loci M/N (M et N codominants) et Rh+/Rh- (Rh+ dominant sur Rh-) dans deux populations humaines. La fréquence de l'allèle M est de 0,24 dans la population 1 et de 0,09 dans la population 2. La fréquence de l'allèle Rh+ est de 0,60 dans la population 1 et de 0,84 dans la population 2. La condition de panmixie est respectée dans chacune des deux populations.

1. Dans la population 1, quelle est la probabilité qu'un couple d'individus [Rh+] donne naissance à un enfant [M, Rh-] ?
2. Une femme de la population 1 a un frère [Rh-]. Quelle est la probabilité qu'elle soit elle-même [Rh-] ?
3. Si l'on considère qu'il n'y a pas de déséquilibre gamétique entre ces deux loci dans chacune des populations 1 et 2, quelle est la fréquence des gamètes portant les allèles M et Rh+ dans la population 1 ? dans la population 2 ?
4. Une île préalablement déserte est colonisée par 70% d'individus de la population 1 et 30% d'individus de la population 2. Calculez les fréquences gamétiques théoriques et observées dans la population globale constituée par tous les habitants de l'île (gardez trois chiffres après la virgule). Y a-t-il déséquilibre gamétique entre les deux loci dans cette population globale ? Si oui, calculez la valeur de ce déséquilibre gamétique.

### Exercice 2

Le gène A présente deux allèles, A1 et A2, dans une population naturelle de *Drosophila melanogaster*. L'allèle A1 ne présente aucun site de restriction à l'enzyme BamHI, tandis que l'allèle A2 en possède deux, comme le montre le schéma ci-après (les flèches indiquent les positions des sites de restriction de BamHI).

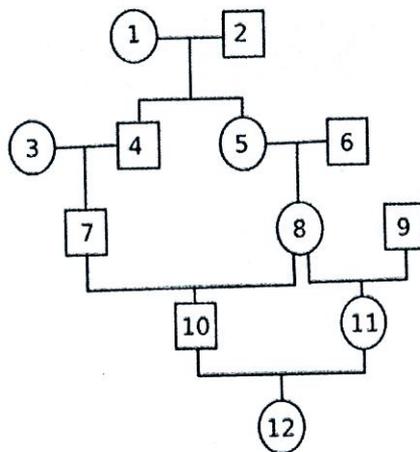


1. Vous disposez de l'ADN génomique d'individus de cette population (extraction sur résine de Chelex). Indiquez les grandes étapes du protocole à suivre pour mettre en évidence le polymorphisme du gène A sur votre échantillon d'individus.
2. A l'issue de votre manipulation, vous visualisez un gel d'électrophorèse. Indiquez les profils attendus pour chaque génotype possible au locus A (vous préciserez la position des amorces de PCR que vous utilisez). Illustrez votre réponse d'un schéma le plus complet possible.
3. Vous comptez 99 individus (A1A1), 102 individus (A1A2) et 49 individus (A2A2). Peut-on considérer que cette population est à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour le gène A ?

### Exercice 3

On considère la généalogie ci-dessous. Les individus 1 et 2 ne sont ni apparentés ni consanguins.

1. Quel(s) est(sont) le(s) individu(s) consanguin(s) dans la généalogie ci-dessous ?
2. Calculez son(leurs) coefficient(s) de consanguinité.



## Sujet de Génétique quantitative

Durée conseillée : 60 mn

Calculatrice autorisée – documents interdits

Chez la carotte, *Daucus carota*, plante allogame et alimentaire, les propriétés nutritives dépendent pour une partie de leur teneur en caroténoïdes, tels que le  $\beta$ -carotène, précurseur de la vitamine A. Des travaux sont ainsi menés pour estimer le contrôle génétique de la teneur en carotènes. Plusieurs croisements sont réalisés à partir de parents considérés comme homozygotes. Les individus F1 obtenus sont autofécondés pour obtenir la F2 et croisés avec chacun des parents pour donner les back-cross. Des graines des F1 sont conservées afin d'élever cette génération avec les suivantes dans les mêmes conditions environnementales. Les lignées parentales trop sensibles à la consanguinité n'ont pas pu être maintenues. Deux caroténoïdes ont été dosés dans la racine au moment de leur récolte. Les effets d'épistasie sont considérés comme négligeables. Les teneurs en caroténoïdes sont portés dans le tableau suivant :

Génération	Effectif	Teneur en $\beta$ -Carotène		Teneur en Lycopène	
		Moyenne ( $\mu\text{g/g}$ )	Variance	Moyenne ( $\mu\text{g/g}$ )	Variance
F1	95	278,2	149,5	20,4	10,6
F2	98	345,3	208,0	29,7	18,8
BC1	92	396,4	201,0	36,2	17,2
BC2	97	295,2	175,5	23,1	14,5

- Estimez les teneurs des deux caroténoïdes dosés que devraient avoir les lignées parentales cultivées dans les mêmes conditions.
- Etablissez les relations entre les variances génétiques additive  $V_A$  et de dominance  $V_D$  et les variances des générations F1, F2, BC1 et BC2.
- Estimez les effets additifs  $a$  et de dominance  $d$ .
- Définissez l'héritabilité.
- Calculez les variances génétique  $V_A$  et  $V_D$
- Calculez les héritabilités des teneurs des deux caroténoïdes dosés
- Quels points communs majeurs et quelles différences majeures mettez-vous en évidence dans le contrôle génétique des deux caroténoïdes analysés ici dans ces descendance ?

Annexe

Table de  $\chi^2$ .

La table donne, pour une probabilité  $\alpha$  et un nombre de degrés de liberté (d.d.l.) donnés, la valeur  $x$  telle que la probabilité que  $\chi^2$  égale ou dépasse  $x$  vaut  $\alpha$ .

d.d.l.	$\alpha$	0.90	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.02	0.01	0.001
1		0.016	0.455	1.074	1.642	2.706	3.841	5.412	6.635	10.828
2		0.211	1.386	2.408	3.219	4.605	5.991	7.824	9.210	13.816
3		0.584	2.366	3.665	4.642	6.251	7.815	9.837	11.345	16.266
4		1.064	3.357	4.878	5.989	7.779	9.488	11.668	13.277	18.467
5		1.610	4.351	6.064	7.289	9.236	11.070	13.388	15.086	20.515
6		2.204	5.348	7.231	8.558	10.645	12.592	15.033	16.812	22.458
7		2.833	6.346	8.383	9.803	12.017	14.067	16.622	18.475	24.322
8		3.490	7.344	9.524	11.030	13.362	15.507	18.168	20.090	26.124
9		4.168	8.343	10.656	12.242	14.684	16.919	19.679	21.666	27.877
10		4.865	9.342	11.781	13.442	15.987	18.307	21.161	23.209	29.588
11		5.578	10.341	12.899	14.631	17.275	19.675	22.618	24.725	31.264
12		6.304	11.340	14.011	15.812	18.549	21.026	24.054	26.217	32.909
13		7.042	12.340	15.119	16.985	19.812	22.362	25.472	27.688	34.528
14		7.790	13.339	16.222	18.151	21.064	23.685	26.873	29.141	36.123
15		8.547	14.339	17.322	19.311	22.307	24.996	28.259	30.578	37.697
16		9.312	15.338	18.418	20.465	23.542	26.296	29.633	32.000	39.252
17		10.085	16.338	19.511	21.615	24.769	27.587	30.995	33.409	40.790
18		10.865	17.338	20.601	22.760	25.989	28.869	32.346	34.805	42.312
19		11.651	18.338	21.689	23.900	27.204	30.144	33.687	36.191	43.820
20		12.443	19.337	22.775	25.038	28.412	31.410	35.020	37.566	45.315
21		13.240	20.337	23.858	26.171	29.615	32.671	36.343	38.932	46.797
22		14.041	21.337	24.939	27.301	30.813	33.924	37.659	40.289	48.268
23		14.848	22.337	26.018	28.429	32.007	35.172	38.968	41.638	49.728
24		15.659	23.337	27.096	29.553	33.196	36.415	40.270	42.980	51.179
25		16.473	24.337	28.172	30.675	34.382	37.652	41.566	44.314	52.620
26		17.292	25.336	29.246	31.795	35.563	38.885	42.856	45.642	54.052
27		18.114	26.336	30.319	32.912	36.741	40.113	44.140	46.963	55.476
28		18.939	27.336	31.391	34.027	37.916	41.337	45.419	48.278	56.892
29		19.768	28.336	32.461	35.139	39.087	42.557	46.693	49.588	58.301
30		20.599	29.336	33.530	36.250	40.256	43.773	47.962	50.892	59.703

Exemple : Une variable aléatoire suivant une loi de  $\chi^2$  avec 3 degrés de liberté a une probabilité  $\alpha = 0.90$  d'être égale ou supérieure à 0.584.

**UE Génétique 2**  
**Epreuve de TP/TD**  
**Sujet de Génétique non mendélienne**  
**Durée 1h00 - calculatrice autorisée, documents interdits**

Vous traiterez les deux exercices avec concision (attention le sujet est recto-verso !)

- A      temps prévu : 20 mn
  - Q1      2 pts
  - Q2      3 pts
  - Q3      3 pts
  
- B      temps prévu : 40 mn
  - Q1      2 pts
  - Q2      6 pts
  - Q3      4 pts

**exercice A-**

Chez la drosophile, le gène autosomal *nanos* est transcrit pendant l'ovogenèse. L'ARNm accumulé est stocké dans la région postérieure de l'ovocyte, et est traduit juste après la fécondation. La protéine NANOS contrôle la formation des structures postérieures de l'embryon. Une mutation dans le gène *nanos* conduit à un embryon non viable, avec des défauts de la partie postérieure.

**Q1** – Quelle est la principale caractéristique d'un tel gène et de la mutation qui l'affecte ? Commentez brièvement votre réponse.

**Q2** – Ecrivez les génotypes et phénotypes des descendants issus du croisement entre une femelle mutante pour *nanos* et un mâle sauvage, tous deux homozygotes.

**Q3** – Même question avec le croisement réciproque.

exercice B-

Le virus sigma appartient à la même famille que le virus de la rage. Il interfère avec le métabolisme des ganglions nerveux de son hôte, *Drosophila melanogaster*, et la rend hypersensible au CO<sub>2</sub> : exposées brièvement à une atmosphère contenant 10% de CO<sub>2</sub> les drosophiles hypersensibles sont paralysées et meurent rapidement. Depuis les années 1960, il a été montré que ce virus

- n'intègre pas son génome à celui des cellules infectées
- n'est pas transmis horizontalement
- est à transmission transovarienne (via les ovocytes puis les ovules).

Q1 – Définir à votre choix soit la transmission transovarienne, soit la transmission infectieuse.

Q2 – à partir d'une lignée pure de drosophile, dont tous les individus sont porteurs du virus sigma, comment vérifier la transmission du virus ?

Préciser les croisements et les tests nécessaires, ainsi que les résultats attendus, sachant que vous disposez de la Souche Sauvage de Référence (SSR) non contaminée.

Pour suivre la progression du virus sigma dans les populations naturelles, des drosophiles sont capturées chaque automne en divers points fixes du Languedoc. Chaque femelle capturée est mise à pondre, et on teste l'hypersensibilité au CO<sub>2</sub> des descendants.

Avec chaque mâle capturé on réalise le croisement (mâle capturé x femelle vierge SSR non infectée) et on mesure l'hypersensibilité au CO<sub>2</sub> des individus de la F1. Voici quelques résultats pour un site donné du Languedoc :

année 1970		année 1979		année 1989		année 1996	
fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)	fe- melle	a (%)
n° 1	0	n° 1	100	n° 1	100	n° 1	100
n° 2	0	n° 2	0	n° 2	100	n° 2	100
n° 3	0	n° 3	100	n° 3	100	n° 3	100
n° 4	0	n° 4	100	n° 4	100	n° 4	100
n° 5	0	n° 5	100	n° 5	100	n° 5	100
mâle	b (%)	mâle	b (%)	mâle	b (%)	mâle	b (%)
n° 1	0	n° 1	0	n° 1	9	n° 1	22
n° 2	0	n° 2	0	n° 2	5	n° 2	18
n° 3	0	n° 3	12	n° 3	7	n° 3	12
n° 4	0	n° 4	0	n° 4	11	n° 4	35
		n° 5	7	n° 5	6	n° 5	26

a : est le pourcentage d'individus hypersensibles dans la descendance des femelles capturées et mises à pondre

b : est le pourcentage d'individus hypersensibles dans la F1 issu du croisement

F1 = (mâle capturé x femelle vierge SSR non infectée)

Q3 – Que constatez-vous ? pour les femelles ? pour les mâles ?  
Quel(s) situation(s) nouvelle(s) se met(tent) en place dans cette population ?

(2/2) fin

## UE Génétique 2

Examen de TD – Durée 2h00

2 sujets à rédiger sur 2 copies différentes

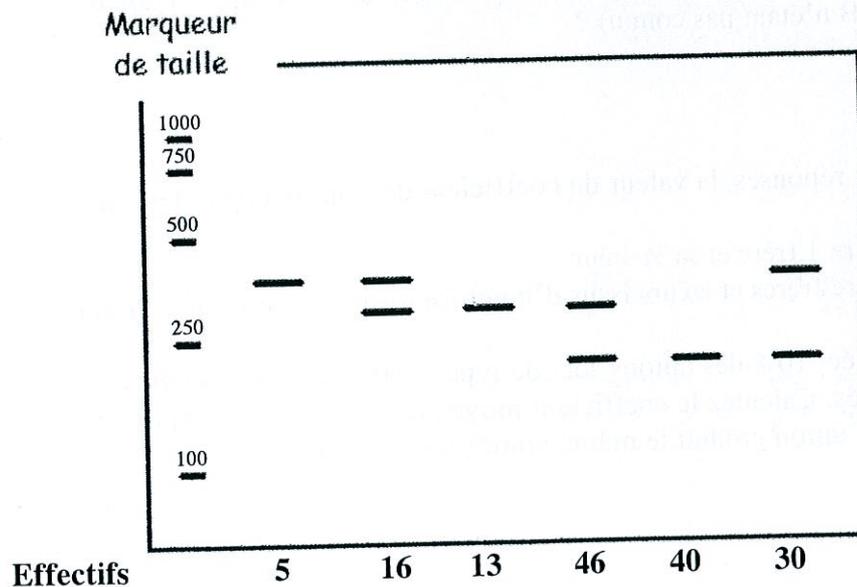
Calculatrice autorisée – Aucun document autorisé

### Sujet 1 : Génétique des populations

Les 3 exercices sont indépendants. Durée conseillée : 1h

#### Exercice 1 :

Le gobi (*Pomatoschistus minutus*) est un poisson marin qui vit près des côtes, dans les estuaires et les eaux saumâtres, et plus particulièrement sur des substrats vaseux ou sableux à des profondeurs variables. C'est une espèce euryhaline, c'est-à-dire une espèce capable de supporter de grandes variations de salinité. *Pomatoschistus minutus* peut donc remonter dans les rivières. Ces poissons sont de mauvais nageurs, ils se déplacent par saccades, mais ils peuvent cependant migrer sur quelques kilomètres. La diversité génétique de différentes populations de gobi d'Europe a été étudiée à l'aide de huit loci microsatellites. Les résultats obtenus sur le locus microsatellite micro1 pour une population du sud de la France sont présentés sur le gel d'électrophorèse suivant :



La taille des fragments du marqueur de taille est donnée (unité : paire de bases). 3 niveaux de migration correspondant à 3 allèles A1, A2 et A3 de tailles respectives 320, 300 et 230 paires de bases sont observés. Les effectifs de chaque génotype sont indiqués.

1. Qu'est-ce qu'un locus microsatellite ?
2. Indiquez les différentes étapes nécessaires pour étudier le polymorphisme génétique sur un locus microsatellite.
3. Indiquez les allèles A1, A2, A3 sur le gel ainsi que la position de la ligne de dépôt et des électrodes (reproduisez rapidement le gel sur votre copie).
4. Cette population est-elle à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour ce locus microsatellite ?

Valeurs du  $\chi^2$  seuil à 5% :

ddl	1	2	3	4	5	6
Valeur seuil	3.84	5.99	7.81	9.49	11.07	12.59

Tournez la page !

## Exercice 2 :

Chez le moustique *Culex pipiens*, la résistance à un insecticide est déterminée par un gène à deux allèles : un allèle A (forme résistante) et un allèle a (forme sensible). L'allèle A est dominant sur l'allèle a. Une analyse génétique réalisée sur des individus d'une population naturelle non traitée aux insecticides depuis 5 ans a donné les résultats suivants :

Phénotype	Effectif
[A]	422
[a]	78

Pour un autre locus B indépendant, les fréquences alléliques des trois allèles dans cette même population sont :  $r=0.5$  pour l'allèle B1,  $s=0.3$  pour l'allèle B2 et  $t=0.2$  pour l'allèle B3. B1 est dominant sur B2 et sur B3. B2 est dominant sur B3 ( $B1 > B2 > B3$ ).

Cette population est à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour les deux loci A et B.

1. Calculez les fréquences alléliques au locus A.
2. Quelle est la fréquence des individus de phénotype [A][B3] ?
3. Quelle est la fréquence attendue des hétérozygotes au locus B parmi les individus de phénotype [B1] ?
4. Un croisement a lieu entre un individu de phénotype [A][B1] et un individu de phénotype [B3] (le phénotype au locus A de cet individu n'étant pas connu). Quelle est la probabilité que ce couple ait un descendant de phénotype [a][B3] ?
5. Même question si on sait que le premier descendant de ce couple a un phénotype [a] (son phénotype au locus B n'étant pas connu) ?

## Exercice 3 :

1. Calculez, en justifiant vos réponses, la valeur du coefficient de consanguinité des enfants issus des unions suivantes :

- Union de type 1 : entre 1 frère et sa  $\frac{1}{2}$  sœur
- Union de type 2 : entre frères et sœurs issus d'un croisement entre cousins germains

2. Dans une population donnée, 10% des unions sont de type 1, 20% de type 2, et 70% des unions se font entre individus non apparentés. Calculez le coefficient moyen de consanguinité dans cette population (on supposera que chaque type d'union produit le même nombre de descendants).

**UE Génétique 2**  
**Examen – Session de juin 2010**

**Sujet 2 : Génétique quantitative**  
**11 juin 2010**

*Durée conseillée : 1h – Calculatrice autorisée – documents interdits*

Le colza est une plante allogame, chez laquelle des lignées homozygotes peuvent être obtenues pour réaliser de nombreux croisements. La sélection tend à favoriser des variétés à forte production de grains. Deux lignées non apparentées et très différentes sont étudiées : la lignée C103 à forte production (37,4 q/ha) et la lignée LW65 à plus faible production (18,6 q/ha). L'hybride F1 obtenu a une production de 43,2 q/ha, avec une variance de 18,64.

1 – Calculer les paramètres  $m$ ,  $a$  et  $d$ . Que pouvez-vous conclure de ce premier résultat ?

2 – Cet hybride F1 a donné une descendance F2 dont la production moyenne est de  $36,2 \pm 0,8$  q/ha avec une variance de 32,75. L'hybride F1 a été croisé avec chacun de ses parents pour produire les back-cross BC1 et BC2. La valeur moyenne de ces back-cross est de  $34,9 \pm 0,8$  q/ha et leur variance moyenne est de 29,72. Ces descendance ont été évaluées dans les mêmes conditions environnementales. Pouvez-vous considérer que les effets dus à l'épistasie sont négligeables ?

3 – Que représentent les variances des descendance F1, F2, BC1 et BC2 ? Démontrez vos réponses.

4 – Calculez les héritabilités au sens strict et au sens large du caractère rendement en grains.

5 – Les individus de la génération F2 se sont croisés entre eux et ont conduit à une nouvelle génération F3 dont le rendement moyen en grains est de  $36,3 \pm 0,8$  q/ha. Cette valeur est-elle conforme à vos prévisions ?

6 – De nombreux croisements ont été produits chez cette espèce. Les lignées parentales et leurs descendance ont été évaluées dans les mêmes conditions que les descendance précédentes. Les rendements des lignées parentales et des croisements ont été notés. Quelles composantes de la variance génétique peut-on estimer avec ces nouvelles données ?

7 – L'héritabilité calculée, dans cette série de croisements, par la relation

$$h^2 = \frac{\text{Cov}(\text{parent moyen, descendant moyen})}{\text{Variance}(\text{moyenne des parents})}$$

conduit à une valeur de  $0,13 \pm 0,03$ .

Cette valeur est-elle conforme avec vos calculs précédents ? Dans le cas contraire, comment pouvez-vous expliquer des différences avec la valeur que vous avez calculée plus haut ?

## UE Génétique 2

Examen de cours – Durée 2h00  
2 sujets à rédiger sur 2 copies séparées  
Calculatrice autorisée – Aucun document autorisé

### Sujet 1 : Génétique des populations / Génétique Quantitative (durée conseillée 1h00)

1. Chez les organismes diploïdes à reproduction sexuée, combien existe-t-il de génotypes possibles si l'on considère simultanément trois loci présentant respectivement 4, 1 et 5 allèles (justifier) ? 2 points
2. L'hétérozygotie théorique d'un locus peut-elle être supérieure à 0,5 ? Si oui, dans quelles circonstances (donner alors un exemple) ? Si non pourquoi ? 1,5 point
3. *Le fait de constater que mâles et femelles peuvent être atteints par une maladie génétique démontre que le déterminisme génétique de cette maladie est autosomique. Que pensez-vous de cette affirmation (justifier).* 1,5 point
4. Définir la notion de déséquilibre gamétique. 1,5 point
5. Quelles circonstances peuvent conduire à l'apparition d'un déséquilibre gamétique et pourquoi ? Donner au moins un exemple vu en cours. 1,5 point
6. *L'évolution du déséquilibre est indépendante du taux de recombinaison intergénétique. Après avoir donné une définition du taux de recombinaison et avoir indiqué sa gamme de variations potentielles (minimum et maximum), commentez cette affirmation.* 2 points
7. La consanguinité peut être due à deux phénomènes. Quels sont ces phénomènes (expliquer) ? 2 points
8. Définir la notion de dérive génétique, puis décrire les conditions/circonstances qui peuvent en être responsables ? Quelles en sont les conséquences ? 2 points
9. Vous constatez au sein d'une population un changement de fréquence allélique sur quelques générations. Quels mécanismes peuvent expliquer ces observations ? 2 points
10. Définir l'héritabilité. En quoi cette notion est importante dans les programmes de sélection artificielle ? 2 points
11. Quelles peuvent être les causes d'une ressemblance entre 2 frères ou entre 2 soeurs sur un caractère quantitatif ? Sachant qu'ils proviennent d'une population où  $V_a=0,04$   $V_d=0,01$  et que la covariance phénotypique entre frères ou soeurs est de 0,045 quantifier la part respective des différentes causes de la ressemblance ? formalisez au maximum votre réponse. 2 points

Tournez la page !!

## UE Génétique 2

Examen de cours – Durée 2h00

2 sujets

Calculatrice autorisée – Aucun document autorisé  
A rédiger sur une copie séparée

### Sujet 2 : Génétique non mendélienne (durée conseillée 1h00 mn)

#### Question 1

1 - Quels sont les caractéristiques de l'hérédité mitochondriale chez les mammifères ?

La neuropathie optique héréditaire de Leber et le syndrome MERFF (*Myoclonus Epilepsy associated with Ragged Red Fibres*) sont des maladies mitochondriales. Des mutations ponctuelles ont été identifiées dans l'ADN mitochondrial et sont localisées, chez les patients atteints du syndrome de Leber dans les gènes codant des polypeptides impliqués dans la chaîne respiratoire, par exemple les gènes codant les sous unités ND1, ND4 et ND6 (ND : NADH déshydrogénase), et chez les patients atteints du syndrome MERFF, dans des gènes d'ARNt.

2 - Comment expliquer l'effet de ces mutations  
chez les patients atteints du syndrome de Leber ?  
chez les patients atteints du syndrome MERFF ?

3 - Peut-on envisager d'effectuer un dépistage de la maladie avant qu'elle ne se déclare chez les personnes à risque ? Justifiez votre réponse.

4 - Chez certains patients atteints de pathologies mitochondriales, aucune anomalie de séquence de l'ADNmt n'est décelée. Comment interpréter ce résultat ?

#### Question 2

Chez la drosophile, des chercheurs ont identifié une mutation de la couleur de l'œil, « *maroon-like* », qui conduit à un œil de couleur claire par rapport à l'œil sauvage rouge-brun. Chez ce mutant, le gène responsable de la mutation est localisé sur le chromosome X et l'allèle muté *mal* est récessif. Ce gène est exprimé dans l'ovaire et le produit de ce gène intervient dans le métabolisme des ptérides et des purines impliquées dans la synthèse des pigments de l'œil.

Les femelles hétérozygotes croisées avec des mâles aux yeux clairs donnent naissance à des mouches sauvages.

1 - Ecrivez les génotypes et phénotypes des parents et descendants, ainsi que leurs proportions relatives. Les femelles F1 issues de ce croisement sont croisées individuellement avec des mâles aux yeux clairs. La moitié de ces femelles donnent naissance à une descendance de phénotype muté, et l'autre moitié, à une descendance de phénotype sauvage.

2 - Ecrivez les génotypes et phénotypes des descendants.

3 - Analysez et interprétez ces résultats.

4 - Proposez une ou des expériences pour confirmer votre interprétation.

**BIO2028LP1 -Introduction à la Biologie Cellulaire et à l'Immunologie**  
**Examen d'IMMUNOLOGIE -janvier 2010 (Durée 1h30)**

**RENDRE 2 COPIES**

Questions de cours (1 copie, 10 points)

- 1- Définissez les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. Précisez quelles cellules les expriment, par quoi elles sont reconnues, quelles sont leurs fonctions et leurs particularités (3 points).
- 2- Lors d'une infection par des bactéries extracellulaires, quels peuvent être le rôle d'anticorps dirigés contre les antigènes portés par ces bactéries ? Expliquez chacun de ces rôles en 3 lignes maximum (3 points).
- 3- Lors de la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative dirigée contre des bactéries extracellulaires, quelles sont les cellules immunitaires impliquées, depuis la détection des bactéries jusqu'à leur élimination. Expliquez pour chacune des cellules impliquées leur rôle et schématisez les interactions moléculaires entre ces cellules (4points).

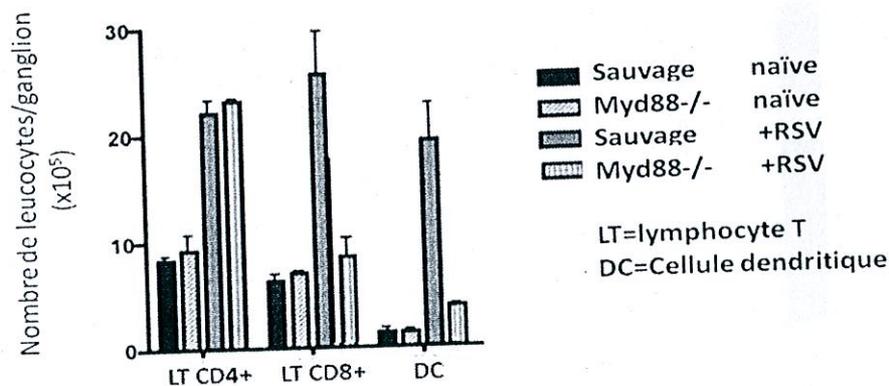
Exercice (1 copie, 10 points). (Expliquez vos réponses de la façon la plus concise et précise possible)

L'infection par le virus syncytial respiratoire (RSV) est la principale cause des maladies respiratoires chez l'enfant en bas âge. Très contagieux, ce virus infecte principalement les enfants de moins de deux ans. Le virus infecte les cellules épithéliales du tractus respiratoire dans sa partie supérieure puis diffuse vers les voies respiratoires inférieures. Une infection par le RSV peut se compliquer et devenir une bronchiolite qui peut entraîner dans des cas exceptionnels l'hospitalisation de l'enfant.

Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en place lors de la réponse immunitaire adaptative contre RSV, une équipe de recherche a utilisé un modèle de souris pour l'étude de cette infection virale.

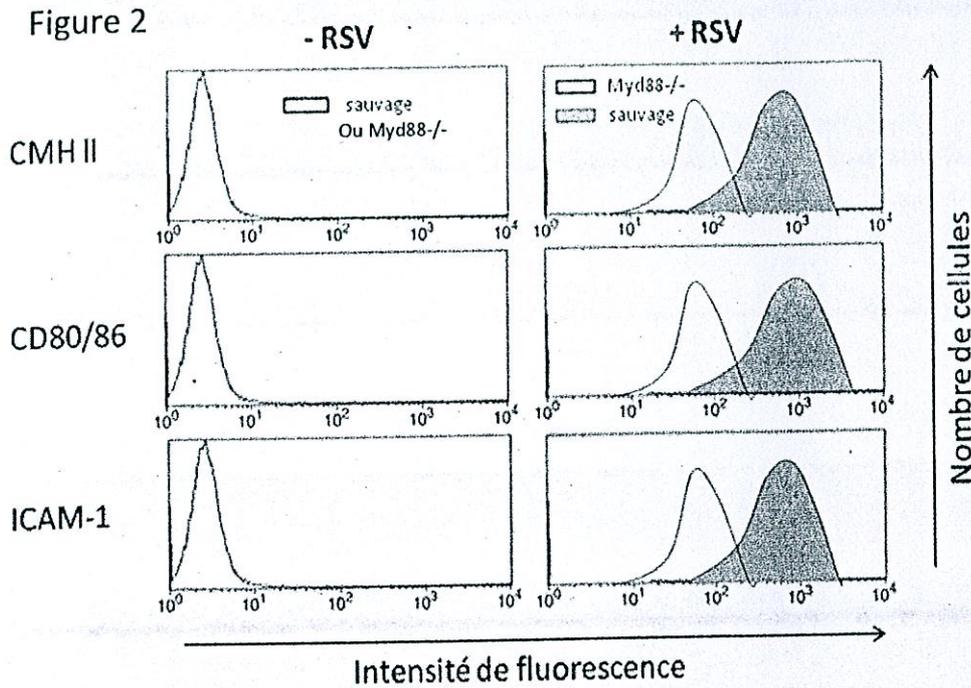
**Figure1 :** Des souris sauvages ou des souris dont le gène codant pour la protéine cytoplasmique adaptatrice Myd88 a été invalidé (absence d'expression de Myd88 = Myd88<sup>-/-</sup>), ont été infectées par RSV (+RSV) ou non (naïve). Les ganglions à proximité des poumons (ganglions drainants) ont été prélevés 7 jours après l'infection et l'accumulation de leucocyte a été évaluée.

Figure 1



Analysez les résultats obtenus. Quels sont les cellules recrutées au site de l'infection ? Quelles sont les conséquences de l'invalidation de Myd88 ? (1 point)

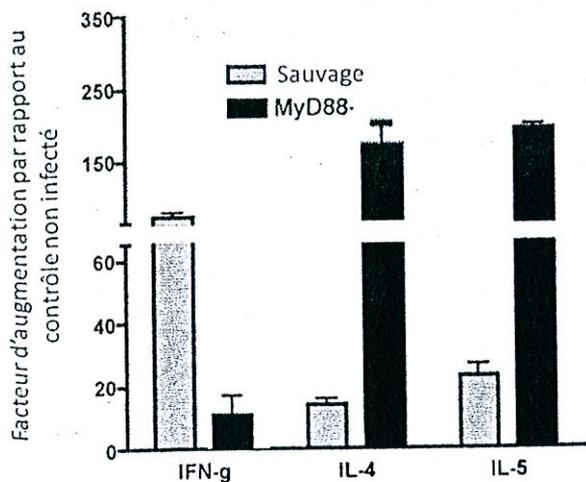
**Figure 2 :** les cellules dendritiques présentes dans les poumons de souris ayant été infectées (+RSV) ou non (-RSV) ont été purifiées 7 jours après l'infection. Deux groupes de souris ont été utilisés, l'un sauvage, l'autre invalidé pour Myd88. L'expression de différentes protéines de surface (CMHII, CD80/86, ICAM-1) a été analysée par cytofluorométrie.



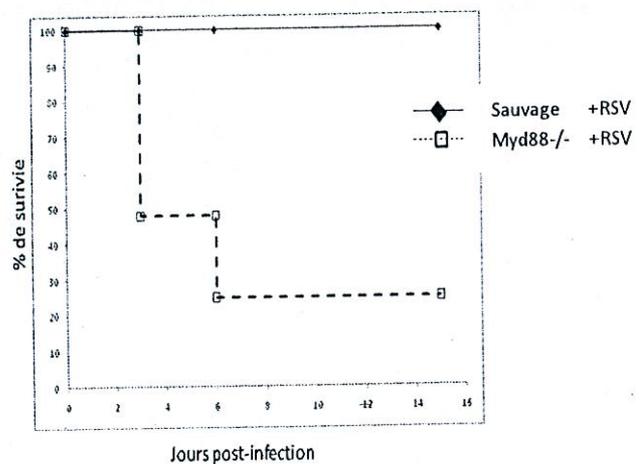
Analysez les résultats obtenus. Quelles est la conséquence de l'infection RSV sur les cellules dendritiques sauvages ? Sur les cellules invalidées pour Myd88 ? (1 points)

**Figure 3 :** L'ensemble des lymphocytes T présents dans les ganglions lymphatiques drainant les poumons de souris infectées, a été prélevé 12 jours après l'infection par RSV. Les lymphocytes T sont ensuite restimulés in vitro par l'ajout d'anticorps agonistes anti-CD3 et anti-CD28. L'interféron gamma (IFN $\gamma$ ), l'interleukine 4 (IL4) et 5 (IL5) sont dosés dans les surnageants de culture (figure 3A). Le pourcentage de survie est déterminé pour chacun des deux types de souris infectées et représenté sur la figure 3B.

**Figure 3 A**

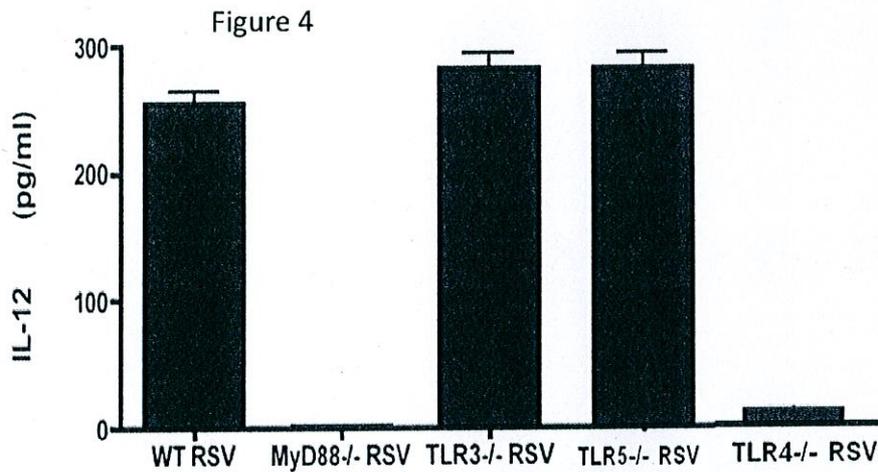


**figure 3 B**



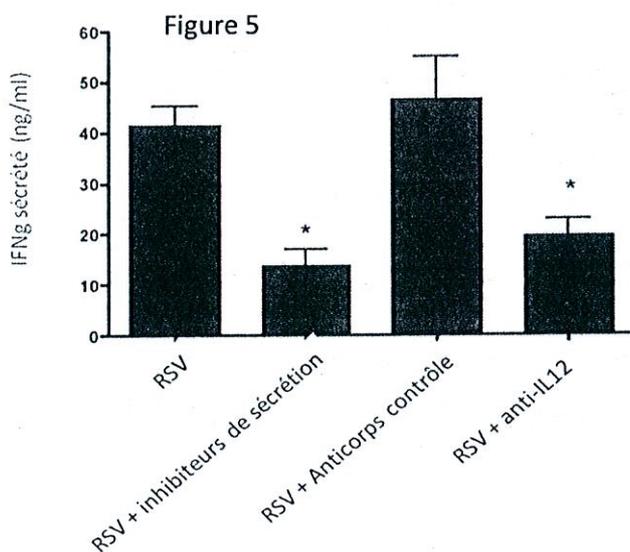
D'après vos connaissances et les résultats obtenus dans cette expérience, quel type de réponse immunitaire adaptative est mis en place dans les souris sauvages? Quel type de réponse est observée dans les souris Myd88<sup>-/-</sup> ? Quelle réponse est la plus adaptée pour résoudre l'infection RSV (2 points)

**Figure 4 :** Afin de comprendre quels sont les récepteurs et les molécules impliqués dans l'initiation de la réponse immunitaire, différents gènes codants pour des PRR (Pattern-Recognition-Receptor : TLR3, TLR4 et TLR5) ont été invalidés chez des souris. Des souris Myd88<sup>-/-</sup> sont aussi utilisées dans ces expériences. Ces souris ont ensuite été infectées par RSV. Après 7 jours la concentration sérique en IL12 a été mesurée. (WT=souris sauvage)



Analysez ces résultats en précisant quel est (sont) le (ou les) PRR capable(s) de lier le virus RSV. Quelle autre protéine étudiée est impliquée dans la sécrétion d'IL12 ? Quelles cellules produisent l'IL12 ? (2 points)

**Figure 5 :** Des souris sauvages sont infectées par RSV. 7 jours après l'infection les cellules dendritiques présentes dans les ganglions drainants des poumons ont été purifiées et mises en présence de lymphocytes T naïfs syngéniques. Différentes conditions sont testées : en présence d'un inhibiteur de sécrétion, en présence d'un anticorps contrôle ou d'anticorps neutralisant l'IL12 (\*=significativement différent de la condition RSV).



Analysez ces résultats. Dans cette expérience quelles cellules sont responsables de la production d'IFNγ ? (1point)

A la vue de l'ensemble des résultats présentés dans les 5 figures de l'exercice, schématisez la mise en place de la réponse immunitaire adaptative dirigée contre RSV. Vous préciserez les organes, les cellules, les interactions moléculaires entre les différents types cellulaires et les facteurs solubles impliqués dans cette réponse. (3 points)

**Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**  
**Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées**

Question 1 : L'endocytose dépendante de la clathrine.

Question 2 : Mécanisme d'action des hormones lipidiques.

**Sujet de Travaux Dirigés de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**  
**Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées**

Il existe un dialogue entre les jonctions cellule-cellule et les jonctions cellule-matrice dans les cellules épithéliales. Les jonctions serrées et d'adhérence sont les jonctions intercellulaires les plus représentées dans ces cellules. Les jonctions cellule-matrice sont formées, quant à elles, par l'interaction des intégrines avec les protéines de la matrice extracellulaire, comme le collagène, la fibronectine, et la laminine. Les jonctions cellule-matrice impliquant les intégrines régulent la formation et la stabilité des jonctions intercellulaires. Les nectines sont des protéines récemment identifiées qui interviennent dans les jonctions cellule-cellule. Il existe 4 protéines nectine (nommées nectine-1 à nectine-4) qui peuvent former des dimères de façon indépendante de la présence de calcium.

Expérience n°1 : Des cellules épithéliales MDCK cultivées jusqu'à confluence ont été fixées et la localisation des protéines cadhérine-E, nectine-3 et intégrine  $\alpha_v\beta_3$  a été analysée par immunofluorescence indirecte en utilisant un microscope à épifluorescence (Figure n°1).

Question n°1 : *Qu'observez-vous ? Que pouvez-vous conclure de cette expérience (Figure n°1) ?*

Expérience n°2 : Des fibroblastes NIH3T3 ont été mis en contact avec des microbilles en latex (astérisque, Figure n°2) recouvertes par différentes protéines, soit par le domaine extracellulaire de la protéine nectine-1 couplé au fragment Fc des immunoglobulines G (IgG) (Nectine-1-FC-IgG), soit par des IgG contrôles (IgG) (Figure n°2). La localisation des billes et leur interaction avec les cellules ont été mises en évidence par contraste de phase, alors que la localisation des protéines nectine-3 et intégrine  $\alpha_v\beta_3$  a été analysée par immunofluorescence indirecte à l'aide d'un microscope à épifluorescence. L'encart (en haut à droite) correspond à un agrandissement de la zone contenant la bille et le trait en pointillé correspond à la localisation de la membrane plasmique des cellules.

Question n°2 : *Qu'observez-vous ? Qu'en déduisez-vous ?*

Expérience n°3 : Sur la Figure n°3, des cellules épithéliales HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , Flag-nectine-1, Flag-nectine-2, Flag-nectine-3, et Flag-nectine-4. Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide d'un anticorps anti-Flag et analysée par Western botting (WB) avec les anticorps indiqués.

Question n°3 : *Définissez et décrivez la méthodologie du Western blotting.*

*Question n°4 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de cette expérience ?*

Expérience n°4 : Sur la Figure n°4, des cellules HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , et GFP-cadhérine-E. Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide d'un anticorps anti-GFP, et analysée par Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués.

*Question n°5 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de ces expériences ?*

Expérience n°5 : Enfin, des cellules HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , Flag-nectine-3- $\Delta$ CP (dépourvue de son domaine cytoplasmique), et Flag-nectine-3- $\Delta$ EC (dépourvue de son domaine extracellulaire). Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide de l'anticorps anti-Flag, et analysée par Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués (Figure n°5).

*Question n°6 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de cette expérience ?*

*Question n°7 : Dressez un schéma récapitulatif des différentes interactions protéiques démontrées dans ces expériences (sur les Figures n°3 à 5). Pour ceci, vous représenterez les protéines avec leurs différents domaines (cytoplasmique, extracellulaire et transmembranaire) et vous indiquerez la membrane plasmique de la cellule. Pensez à orienter votre schéma !*

Figure n°1

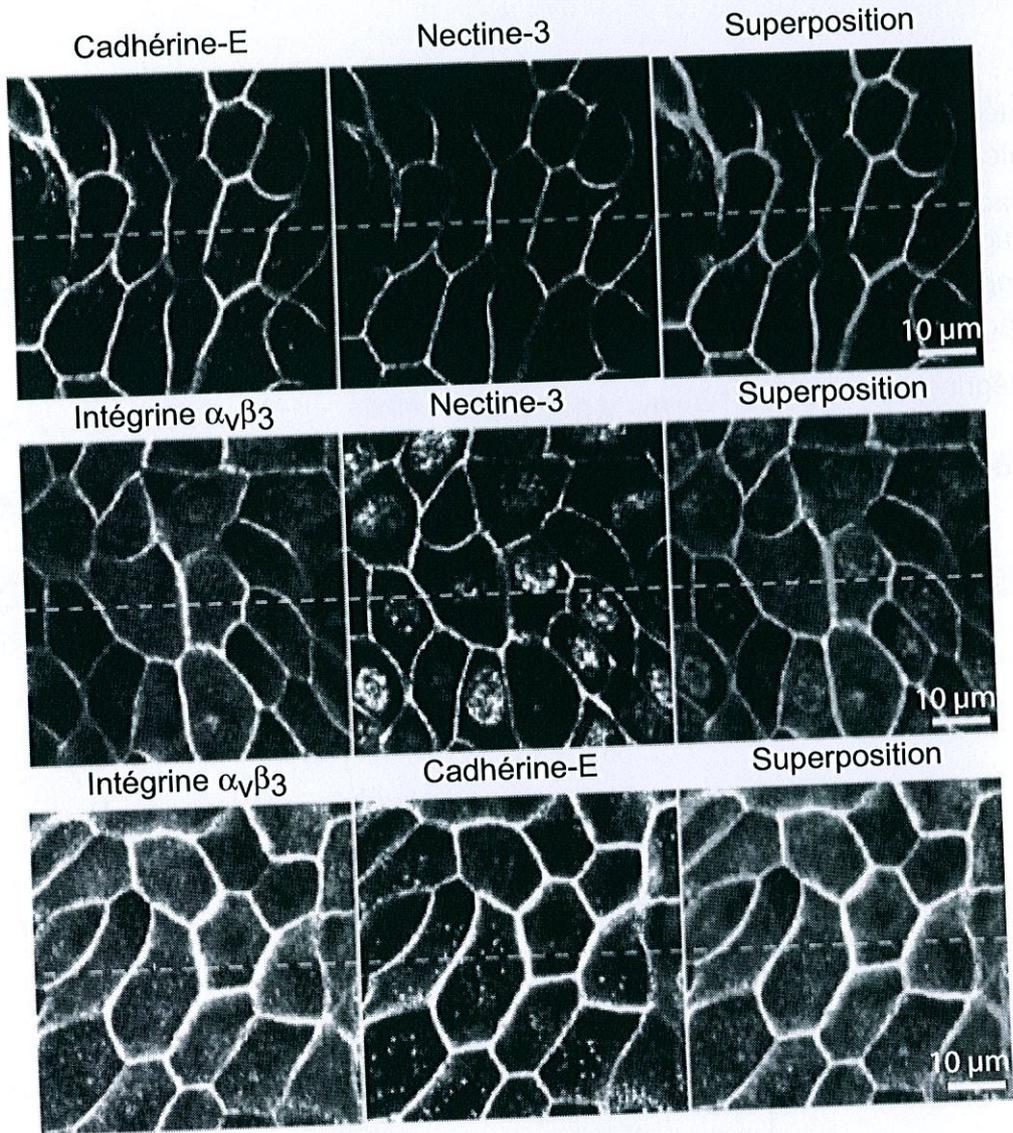


Figure n°2

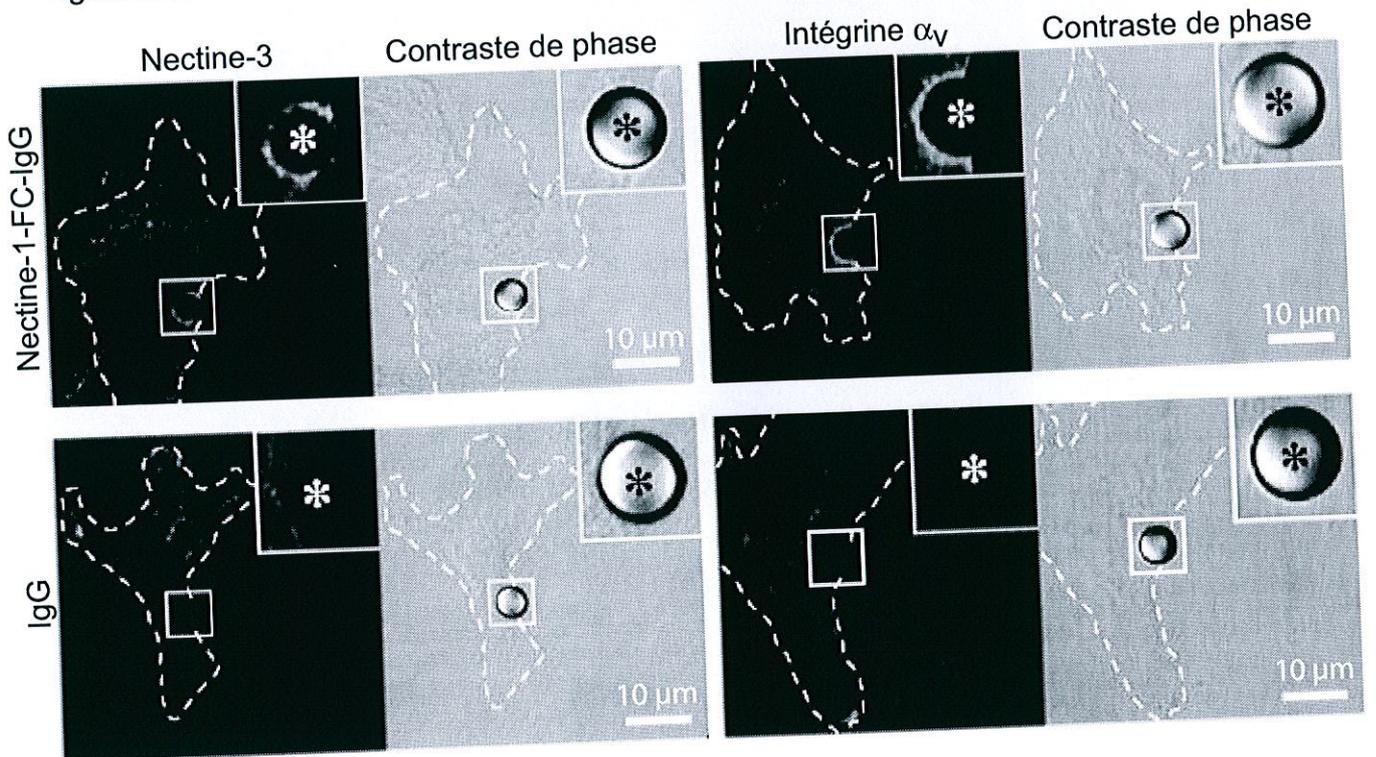


Figure n°3

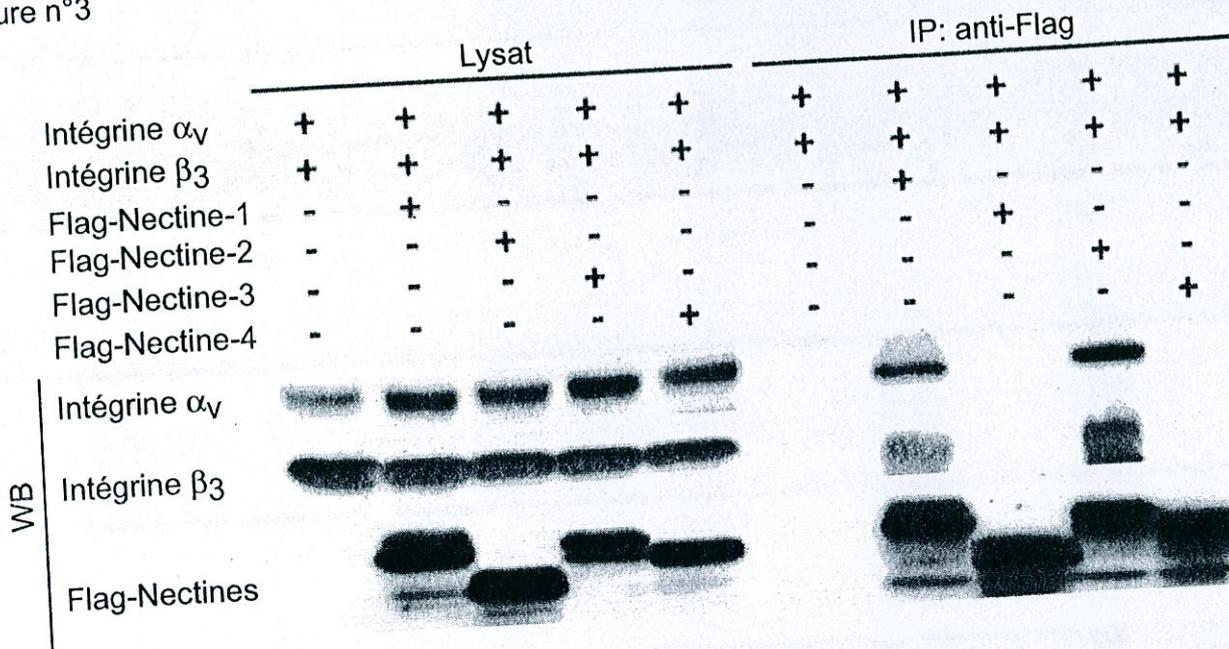


Figure n°4

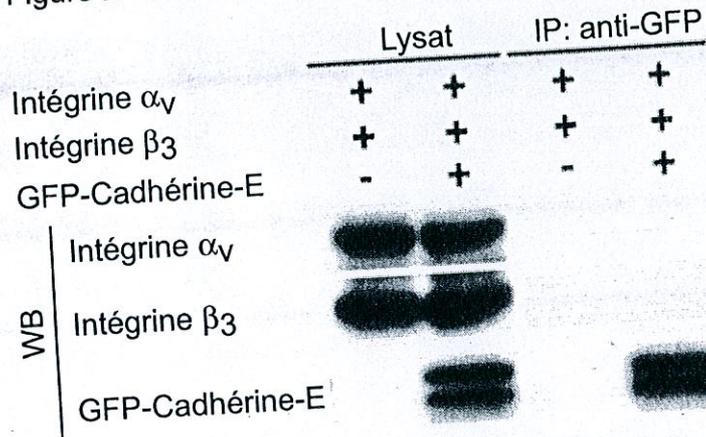
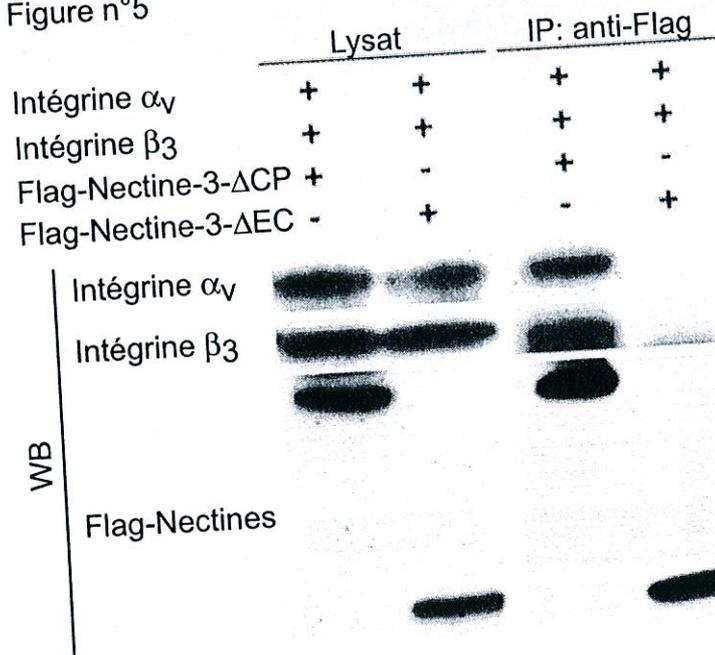


Figure n°5



N° d'anonymat : .....

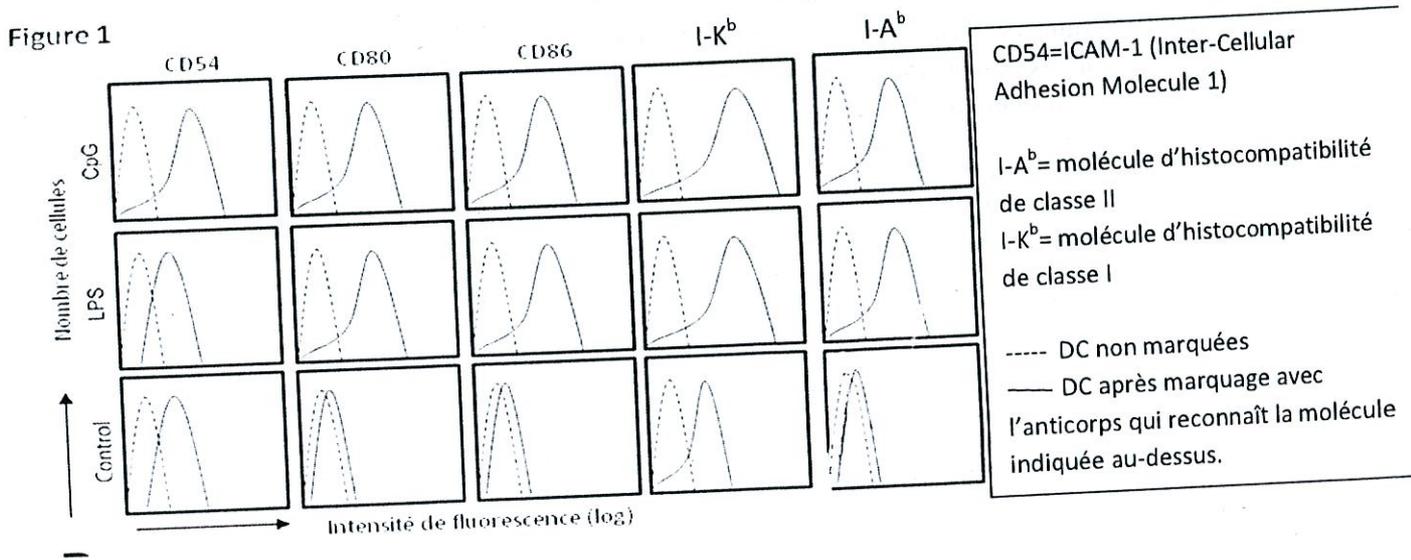
RENDRE 2 COPIES ET L'ENONCE

Questions de cours (1 copie, 10 points)

- 1- Décrivez à l'aide d'un schéma et le plus précisément possible la structure d'un ganglion lymphatique (2 points)
- 2- Décrivez deux exemples de coopération cellulaire lors de la mise en place de la réponse immunitaire adaptative cytotoxique et précisez les types cellulaires et les molécules mise en jeu lors de cette réponse ? (3 points)
- 3- Qu'est ce que la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps ou « ADCC » ? (2 points)
- 4- Expliquez au moins 3 fonctions exercées par les anticorps produits lors d'une réponse dirigée contre des pathogènes extracellulaires ? (1,5 points).
- 5- Vis-à-vis de la reconnaissance de l'antigène, quelle est la principale différence entre le TCR et le BCR ? (1,5 points)

Exercice (1 copie + énoncé, 10 points). (Expliquez vos réponses de la façon la plus concise et précise possible)

Des expérimentateurs cherchent à déterminer les mécanismes moléculaires conduisant à l'activation des lymphocytes T par les cellules dendritiques (DC). Pour cela ils purifient des DC à partir de sang prélevé sur des souris sauvages saines. Ces cellules sont ensuite incubées in-vitro pendant 8h en présence ou en absence de ligand (CpG ou LPS) des Toll-Like-Receptors (TLR, récepteurs de la famille des PRR). Le CpG est reconnu par TLR9 alors que le LPS est reconnu par TLR4. Le phénotype des cellules incubées dans les différentes conditions testées est déterminé par marquage avec des anticorps fluorescents, Anti-CD54, anti-CD80, anti-CD86, anti-I-K<sup>b</sup> et anti-I-A<sup>b</sup> (figure 1).



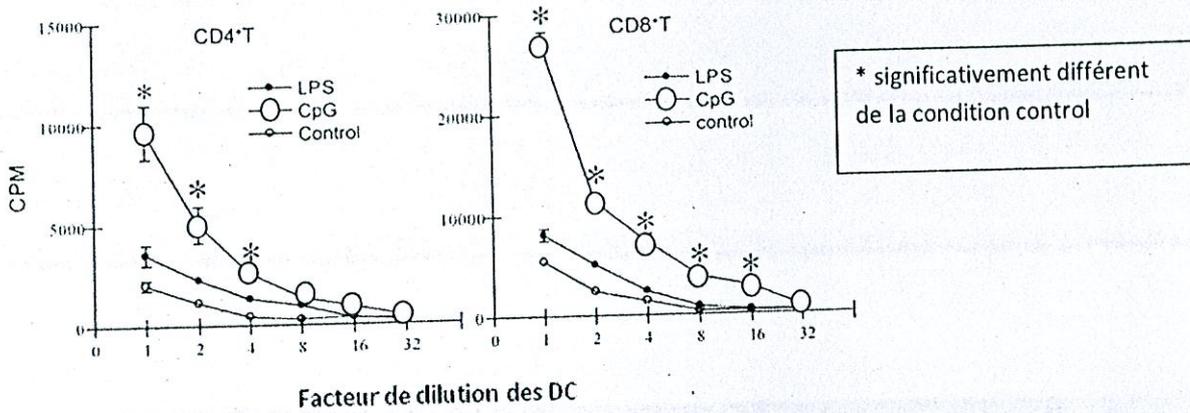
**Question 1 :** Analysez les résultats présentés en figure 1. (2 points)

**Question 2 :** Que concluez-vous quant au phénotype des DC traitée par CpG ou LPS ? (1 point)

Tournez la page SUP.

Les DC préalablement incubées dans les conditions control, LPS ou CpG sont ensuite mises en co-culture à différentes dilutions (facteur de dilution allant de 1 à 32) avec une quantité constante ( $1.10^5$  cellules) de lymphocytes T CD4 ( $CD4^+T$ ) ou de lymphocytes TCD8 ( $CD8^+T$ ) syngéniques. La prolifération des cellules T est ensuite mesurée par incorporation de thymidine tritiée et les résultats sont reportés figure 2.

Figure 2



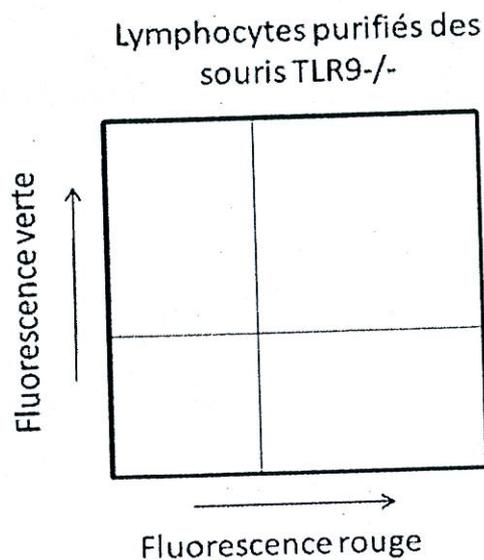
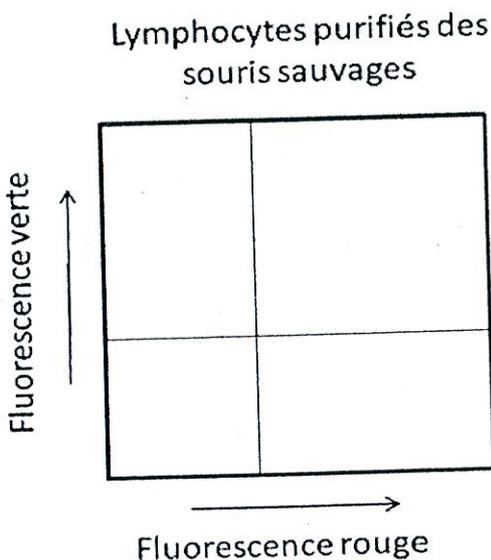
**Question 3 :** Expliquez brièvement (10 lignes maximum) la méthode utilisée dans cette expérience. (1point)

**Question 4 :** Analysez les résultats de la figure 2. Que concluez-vous quant à la capacité des DC traitées par LPS à induire la prolifération des LT ? (2points)

**Question 5 :** En tenant compte des observations de la figure 1, en quoi l'expression de CD54 sur les cellules incubées avec CpG peut avoir un rôle dans la capacité des DC à induire la prolifération des LT ? (2points)

Les expérimentateurs désirent maintenant vérifier ces résultats de prolifération dans un modèle animal murin en utilisant des souris sauvages ou invalidées (knock-out) pour TLR9 (TLR9<sup>-/-</sup>). Les souris sont immunisées par injection intra-péritonéale (dans l'abdomen) d'un fragment peptidique de l'ovalbumine (OVA<sub>257-264</sub>) en solution avec du CpG. 5 jours plus tard, les souris sont sacrifiées et les lymphocytes présents dans leur sang sont purifiés. L'ensemble des lymphocytes purifiés de chacune des souris sont incubés avec du tétramère I-K<sup>b</sup>/OVA<sub>257-264</sub> couplé à un fluorochrome émettant dans le vert et un anti-CD8 couplé à un fluorochrome émettant dans le rouge. Les lymphocytes ainsi marqués sont analysés par cytométrie en flux.

**Question 6 :** Compte-tenu des résultats obtenus précédemment, quelles images (en dot-plot) de cytométrie pensez-vous obtenir suite à cette analyse des lymphocytes issus soit des souris sauvages, soit des souris TLR9<sup>-/-</sup> : dessinez vos hypothèses en complétant les figures 3A et 3B ci-dessous. Indiquez dans chaque cadran le (les) type(s) cellulaire(s) représenté(s) (2points)



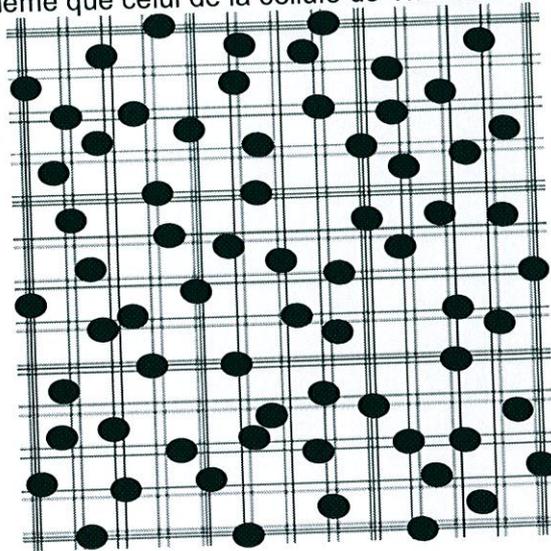
# Université Claude-Bernard

## BIO2015L Microbiologie 1

Examen écrit TP/TD – 2<sup>ème</sup> session février 2010

### Question 1 :

a) Afin d'estimer la concentration cellulaire d'une culture pure de levures, un microbiologiste prélève un échantillon qu'il dilue 50 fois et dépose sur une cellule de Bürker (cellule de numération dont le principe est le même que celui de la cellule de Thoma mais de dimensions différentes)



Sachant que le côté de chaque petit carré mesure 0.04 mm et que la profondeur de la chambre est de 0.1 mm, déterminez la concentration cellulaire de cette culture pure en détaillant votre démarche.

b) Ce même microbiologiste effectue une série de dilutions en cascade de 10 en 10 à partir de la même culture pure de levure (tube 0) et étale 100  $\mu$ l de chaque dilution sur 3 boîtes de Pétri. Il obtient les résultats suivants :

Dilutions	0	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
Boîte 1	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	835	79	7
Boîte 2	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	597	58	2
Boîte 3	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	714	66	4

Calculez la concentration cellulaire obtenue avec cette méthode en détaillant votre approche. Comparez ce résultat avec celui obtenu avec la cellule de Bürker. Qu'en concluez-vous ?

c) Rappelez brièvement ce qu'est une culture pure et expliquer à l'aide de dessins 1 méthode permettant d'obtenir une culture pure à partir d'un mélange microbien.

### Question°2

a) Quelles sont les différentes phases qui se succèdent au cours d'une croissance bactérienne en donnant sa représentation graphique.

b) Des mesures de concentrations cellulaires (N1 et N2) effectuées aux temps T<sub>1</sub> et T<sub>2</sub> ont donné les résultats suivants :

$$T_1 = 2h ; \text{Log}N_1 = 15,85$$

$$T_2 = 3h ; \text{Log}N_2 = 17,95$$

Définir et calculer le temps de génération (g) et le taux de croissance ( $\mu$ ) en expliquant votre calcul.

**Université Claude-Bernard**  
**BIO2015L Microbiologie 1**  
Examen écrit CM – 2<sup>ième</sup> session février 2010

**Les 2 sujets sont à traiter sur 2 copies séparées**  
**Porter le nom de l'enseignant sur la copie**

Sujet M. Louvel (1h)

1. Les endospores

Définition.

Indiquez 2 genres bactériens développant des endospores.

Caractéristiques morphologiques et structurales des endospores (aidez-vous de schémas).

Propriétés des endospores et leurs conséquences dans les pratiques de la microbiologie.

2 Légendez le schéma ci-joint en **n'oubliant pas de porter le numéro de copie**

Sujet G. Gay (30 min)

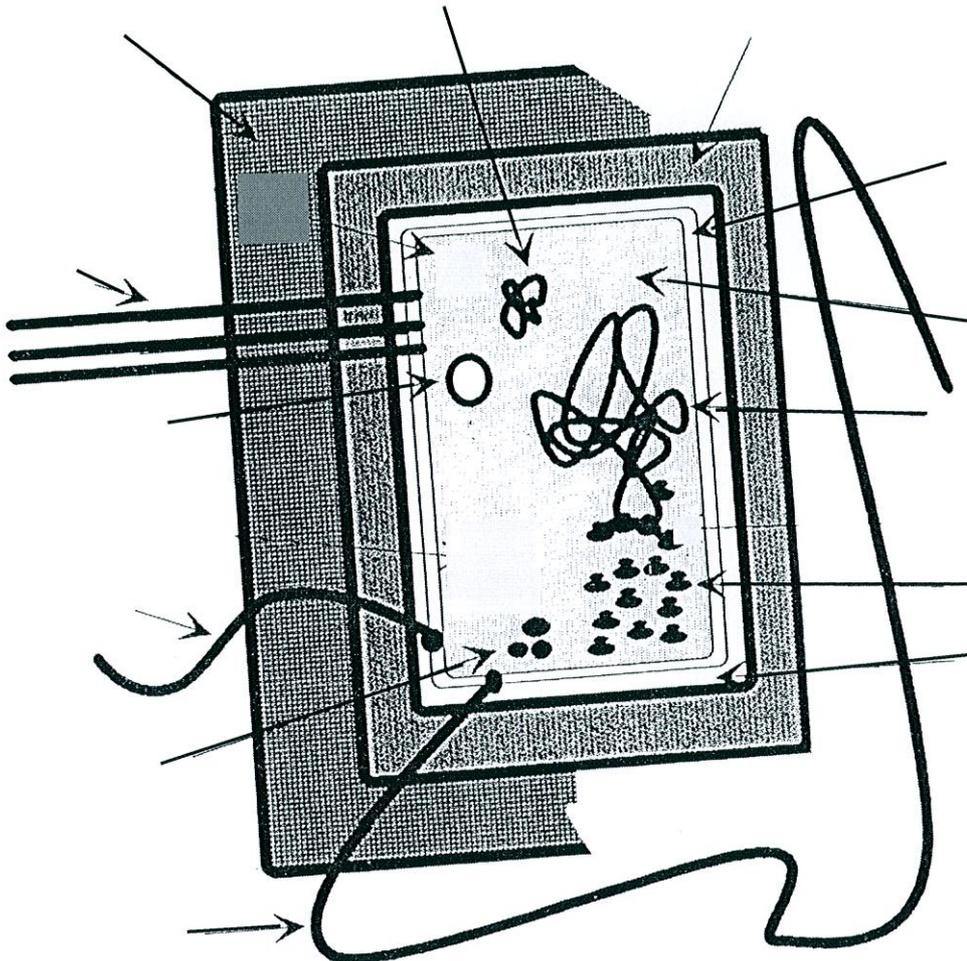
Les levures ont des cycles de reproduction extrêmement variés. Illustrez cette diversité en présentant, sous forme de schémas légendés, deux cycles que vous jugez particulièrement représentatifs. Expliquez ces cycles et justifiez leur choix.

N° de copie :

## BIO2015L Microbiologie 1

Sujet M. Louvel question 2

Que représente ce schéma. Légendez le en soulignant les structures constantes.



**Université Claude-Bernard**  
**BIO2015L Microbiologie 1**  
Examen écrit CM – 1<sup>ère</sup> session janvier 2010

**Les 3 sujets sont à traiter sur 3 copies séparées**  
**Porter le nom de l'enseignant sur la copie**

---

Sujet M. Lemaire (1h)

Question I

Un étudiant réalise une culture de la bactérie *Escherichia coli* (temps de génération = 20 min) dans des conditions optimales de croissance (bouillon nutritif, à 37°C, sous agitation). Pour cela, il ensemence stérilement 100 mL de milieu de culture avec 1 mL d'une préculture en phase stationnaire, conservée à 4°C depuis quelques jours. Il surveille ensuite durant 24h l'évolution de la culture en mesurant le nombre de cellules totales et la fraction viable au cours du temps, puis en traçant les graphes correspondants.

- A) Dessinez sur un même graphe l'allure des courbes théoriquement obtenues par l'étudiant sachant qu'au bout de 24h, les cellules ne se divisent plus depuis quelques heures. Délimitez et commentez les différentes phases de croissance observées.
- B) Citez une méthode que l'étudiant a pu utiliser pour mesurer a) la flore totale b) la fraction viable. Dans chaque cas, expliquez le principe de la méthode choisie
- C) Quel aurait été le résultat si, lors de la phase de multiplication active, l'étudiant avait ajouté dans le milieu un agent bactéricide ? bactériostatique ? bactériolytique ? Dessinez dans chaque cas les cinétiques prévues en justifiant votre réponse (**2-3 phrases maximum pour chaque cas**).

Question II

Détaillez en vous aidant d'un schéma clair et précis les différentes cibles cellulaires des substances utilisées en chimiothérapie antibactérienne. Donnez 2 exemples de substance agissant sur ces cibles en expliquant brièvement leur mode d'action (3-4 phrases).

---

Sujet G. Gay (0,5 h)

Question I

Définissez, en trois lignes maximum, les termes suivants : appressorium, nécrotrophe, mycorhize, arbuscule, conidiophore, hyphe, zoospore, homothalle, coenocytique, candidose

Question II

Présentez sous forme d'un schéma légendé le cycle de reproduction sexuée de *Saccharomyces cerevisiae*. Donnez en 3 lignes maximum ses principales caractéristiques

**Tournez SVP**

---

## Sujet P. Potier (0,5 h)

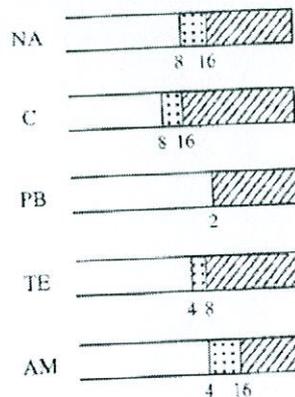
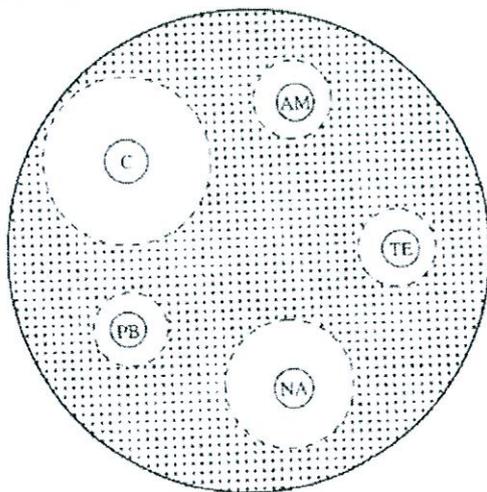
### Question I

Décrivez les différents mécanismes de pénétration des virus animaux dans les cellules hôtes. Des schémas seront appréciés.

### Question II

**La fermentation propionique:** dans quel type de transformation alimentaire est-elle mise à profit? Quels sont les produits libérés lors de cette fermentation? Quels est le rôle respectif de ces produits dans l'élaboration du produit fini? **NB: le détail des réactions biochimiques n'est pas demandé.**

**Question 1 :** Un antibiogramme est réalisé, par la méthode des disques, sur une souche bactérienne isolée d'un patient infecté. Après culture, on obtient l'image ci-dessous.



NA: acide nalidixique  
C: chloramphénicol  
PB: polymyxine B  
TE: tétracycline  
AM: ampicilline



Remarque : la boîte de Pétri est représentée à l'échelle des abaques  
(D'après « Institut Pasteur Production »)

- Donnez la définition de la CMI. A l'aide des abaques de lecture, décrivez les résultats qualitatifs et quantitatifs de cet antibiogramme. Quel(s) antibiotique(s) pourra (ont) être testé(s) sur le patient ?
- Citez les principales étapes du protocole expérimental permettant, à partir d'un prélèvement effectué chez le patient, d'aboutir à une identification complète de la souche bactérienne à l'origine de son infection.

**Question 2 :** La croissance d'une bactérie sera suivie en milieu liquide synthétique.

- Quelle est la particularité principale d'un milieu de culture synthétique ? Au moment de la confection de ce milieu, quel protocole simple peut-on réaliser pour stériliser ses différents constituants : glucose, solution de sels minéraux, vitamines et facteurs de croissance thermosensibles ?
- Citez au moins deux conditions environnementales à contrôler lors de l'incubation. Que sont le temps de génération et le taux de croissance spécifique d'une bactérie? Au cours de quelle phase de croissance bactérienne, détermine-t-on ces paramètres de croissance ?
- Déterminez par calcul, le taux de croissance spécifique de cette bactérie par heure et déduisez-en ainsi le temps de génération en min, sachant que :
  - l'inoculum initial a été de  $10^7$  bactéries,
  - la phase de latence a été de 30 min,
  - en phase exponentielle, la population a atteint  $10^9$  bactéries, 2h30 après l'inoculation,
  - la phase stationnaire a été atteinte 3h après l'inoculation.

Attention : Il vous sera demandé, pour la détermination de chaque paramètre, de poser l'équation théorique complète et le détail du calcul numérique.

### Examen de TD/TP (1h)

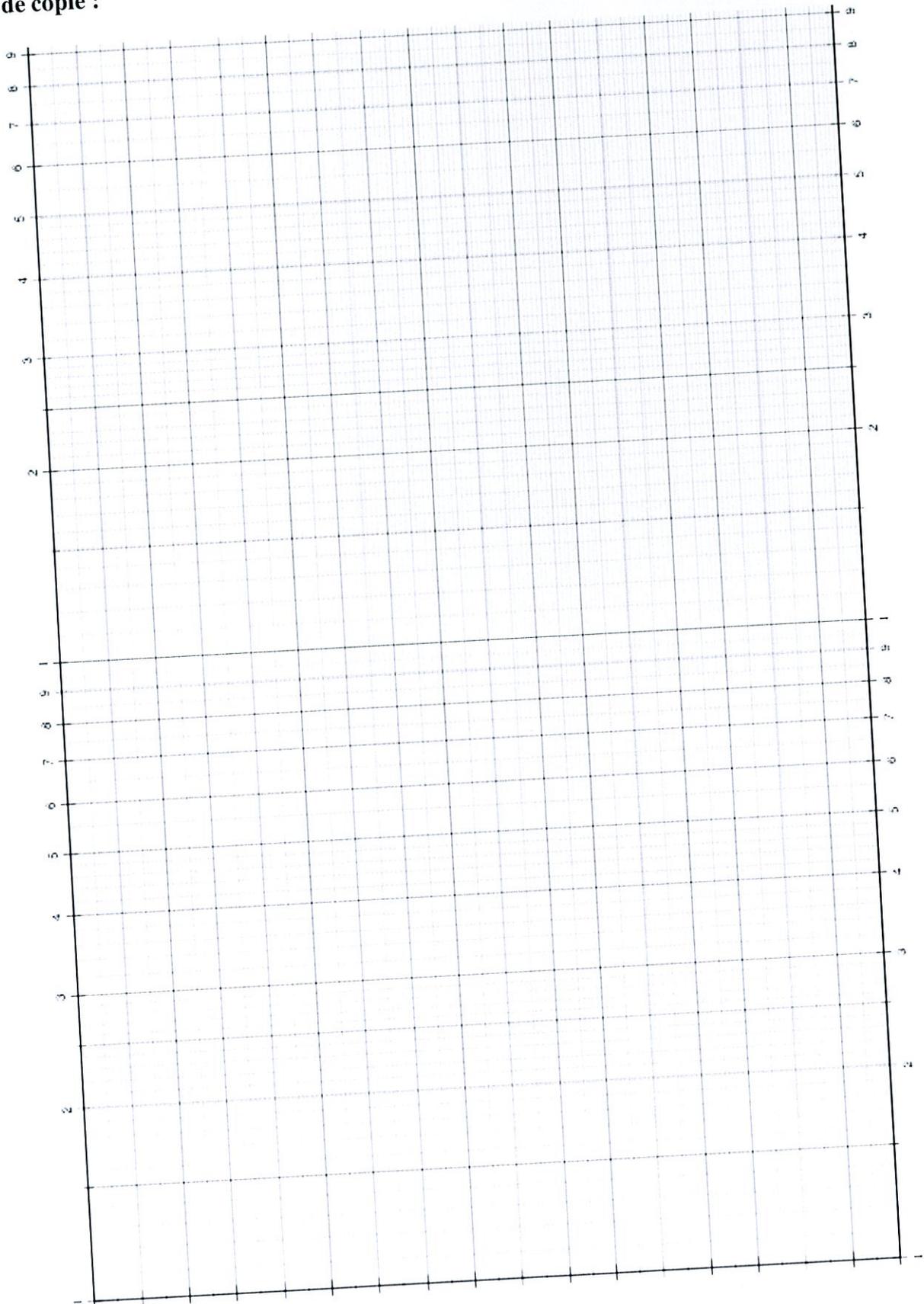
Un expérimentateur décide de suivre la croissance en bouillon nutritif d'une culture de *Pseudomonas putida* en mesurant l'absorbance régulièrement après dilution éventuelle (cf. Tableau).

Temps	Dilution	Absorbance
0	Aucune	0,10
1h	Aucune	0,10
2h	Aucune	0,12
3h	Aucune	0,19
4h	Aucune	0,30
5h	Aucune	0,48
6h	Aucune	0,75
7h	1/2	0,60
8h	1/4	0,47
9h	1/4	0,61
10h	1/4	0,69
11h	1/4	0,68

- 1) Tracer la courbe Absorbance = f(t) sur le papier fourni. Commentez la courbe en définissant ses différentes parties.
- 2) Déterminer **par le calcul** le taux de croissance et le temps de doublement de cette souche bactérienne cultivée en bouillon nutritif.
- 3) Déterminer graphiquement le temps de doublement et comparer avec la valeur obtenue précédemment.
- 4) A l'aide du prélèvement réalisé au bout de 5h, l'expérimentateur réalise en parallèle un dénombrement à la cellule de Thoma. Il dilue l'échantillon prélevé au 1/5 et dénombre les bactéries sur quatre grands carrés. Les valeurs trouvées sont : 41 / 40 / 44 / 35. Déterminer la concentration cellulaire de la suspension prélevée à 5h.  
(Rappel : 1 grand carré comprend 16 petits carrés. Côté d'un petit carré = 0,05 mm, Epaisseur = 0,1 mm).
- 5) Quelques jours plus tard, l'expérimentateur dispose d'une culture de la même souche bactérienne réalisée dans les mêmes conditions (milieu, agitation, température). Sachant que cette culture présente une absorbance de 0,64 et que l'expérimentateur a besoin de  $10^9$  cellules pour réaliser une extraction d'ARN, quel volume doit-il prélever ?

Inscrire votre N° de copie et fournir **obligatoirement** cette feuille avec votre copie d'examen.

N° de copie :



**Université Claude-Bernard**  
**BIO2015L Microbiologie 1**  
Examen écrit CM – 1<sup>ère</sup> session Juin 2010

**Les 2 sujets sont à traiter sur 2 copies séparées**  
**Porter le nom de l'enseignant sur la copie**

Sujet Mme Louvel (1h30)

**Question 1.** Les plasmides bactériens non conjugatifs : caractéristiques générales et propriétés biologiques conférées par leur présence (1 copie max).

**Question 2.** Complétez le tableau et le joindre à votre copie sans oublier d'y porter **votre numéro de copie**.

Sujet Mr Bruel (0h30)

**Question 1.** Donnez quatre mots clés caractérisant de manière spécifique les champignons.

**Question 2.** Représentez sous forme d'un schéma légendé le mode de nutrition de ces micro-organismes. Quel nom donne-t-on à cette nutrition ?

**Question 3.** Représentez sous forme d'un schéma légendé la reproduction sexuée des Zygomycètes.

N° de copie à reporter :

Sujet Mme Louvel  
Question 2

	Cellule procaryote (eubactérie)	Cellule eucaryote
Taille typique		
Type de division cellulaire		
<b>Organisation génétique</b>		
- membrane nucléaire (présente/absente)		
- nombre de chromosomes		
- chromosome (circulaire/linéaire)		
- taille du génome		
- introns (présents/absents)		
- histones (présentes/absentes)		
- nucléole (présent/absent)		
- type d'échange génétique		
- couplage transcription/traduction (oui/non)		
<b>Structure cellulaire</b>		
<u>Présence d'organites</u>		
- mitochondries (présentes/absentes)		
- chloroplastes (présents/absents)		
- reticulum endoplasmique (présent/absent)		
- appareil de Golgi (présent/absent)		
<u>Paroi</u>		
- présente/absente		
- contient du peptidoglycane (oui/non)		
- contient du NAM (oui/non)		
- contient de la cellulose (oui/non)		
<u>La membrane plasmique</u> contient des stérois (oui/non)		
<u>Endospores</u> (présentes/absentes)		
<u>Ribosomes</u>		
- taille		
- localisation		
Localisation de la chaîne de transport d'électrons		

**Physiologie Animale L2 – Travaux Pratiques**  
**Mesure de l'espace extracellulaire d'un tissu isolé**  
**2009-2010 – Semestre 1 – Session 1**

N° d'anonymat (n° de copie) :

Cochez le nom de votre enseignant de TP :

Cécile Vouyovitch

Pierre Copin

**Exercice**

Quatre fragments d'intestin de rat sont incubés dans un large volume de milieu physiologique contenant de l'inuline à 1%. On réalise une étude cinétique de l'incorporation d'inuline dans le tissu. Pour cela, chaque fragment a été incubé à un temps différent et l'inuline a été dosée dans chaque fragment (voir **tableau 1**). On réalise conjointement une gamme étalon et, grâce à la méthode de la moyenne des pentes, on a déterminé une pente moyenne  $a = 0,0075$ .

Masse fraîche (g)	Volume de dilution (mL)	Temps d'incubation (min)	DO corrigée 635 nm	Concentration d'inuline ( $\mu\text{g/mL}$ )	Quantité d'inuline dans le fragment ( $\mu\text{g}$ )	Quantité d'inuline ( $\mu\text{g}$ ) pour 100g de tissu	LEC (%)
0,250	10,205	4	0,073				
0,315	10,258	15	0,161				
0,350	10,287	45	0,255				
0,300	10,246	55	0,330				

**Tableau 1.** Dosage de l'inuline dans les fragments d'intestin de rat

**Q1.** Quelles sont les caractéristiques d'un bon traceur ? Quel est l'intérêt d'utiliser de l'inuline pour estimer le volume du liquide extracellulaire (LEC) dans un fragment d'intestin ?

**Q2.** A l'aide de schémas simples et annotés, récapitulez les **principales étapes** du protocole expérimental (inutile de préciser les volumes prélevés). Pourquoi rajoute t-on de l'acide perchlorique ? (*La méthode de dosage est identique à celle utilisée en TP*)

**Q3.** Quel est l'intérêt de réaliser une gamme étalon et quel est son principe ? Quelle constante permet-elle d'obtenir ?

**Q4.** Quelle est la concentration d'inuline (en  $\mu\text{g/mL}$ ) dans le milieu d'incubation ?

**Q5.** Remplir le **tableau 1** en détaillant **un exemple** de calcul. Que pouvez vous conclure au vu de ces résultats ?

**Physiologie Animale L2 – Travaux Pratiques**  
**Potentiel d'action et contraction musculaire**  
**2009-2010 – Semestre 1 – Session 1**

N° d'anonymat (n° de copie) :

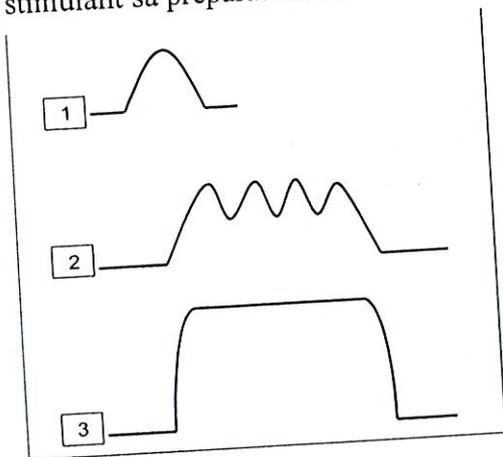
**Rappel : attention, le barème tient compte de l'orthographe et la présentation !!!**  
(1 point)

**Question 1 (3 points)**

Dessiner les tracés théoriques d'un électroneurogramme (ENG ou potentiel d'action complexe), d'un électromyogramme (EMG ou potentiel d'action musculaire) et d'une contraction musculaire (CM) observés à l'aide d'un oscilloscope, obtenus sur une préparation nerf- muscle de grenouille suite à une stimulation isolée. Tenir compte de l'échelle de temps.

**Question 2 (7 points)**

Au cours de la séance de TP, cet étudiant obtient différents types de tracés de CM en stimulant sa préparation avec une intensité constante et considérée comme maximale.



- Nommer les phénomènes observés en 1, 2 et 3.
- Donner les mécanismes entrant en jeu pour expliquer les tracés 2 et 3.

**Question 3 (5 points)**

Pour finir, l'étudiant stimule le nerf pendant 2 minutes de façon continue pour fatiguer le muscle.

- Dessiner **SUR** le tracé 1 la réponse observée sur l'oscilloscope suite à cette stimulation.
- Expliquer les différences observées.

**Question 4 (4 points)**

Répondre succinctement.

- Quel est le nerf que l'on isole ?
- Quel est le muscle que l'on isole ?
- Quelle est la longueur du fil reliant le transducteur au muscle ?
- Qu'est-ce qu'un transducteur ?

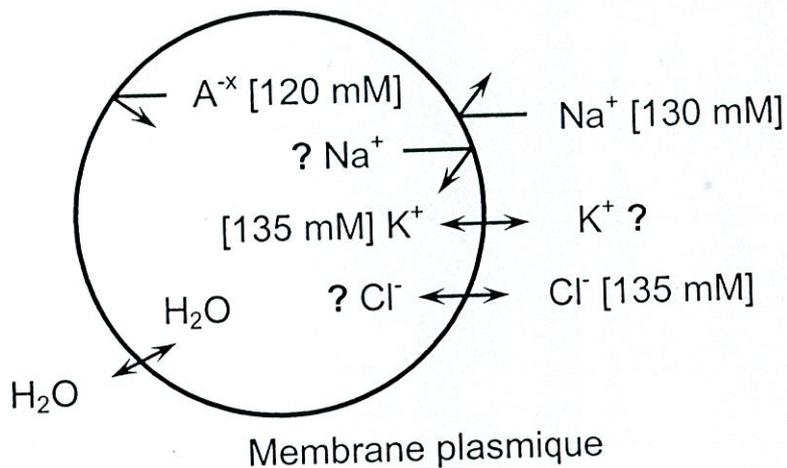
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD  
LICENCE de Sciences et Technologies - 2<sup>ème</sup> année

UE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE - ECRIT  
SESSION DE JANVIER 2010

Durée de l'épreuve : 1h30. Les calculatrices sont autorisées.  
Les trois sujets seront rédigés sur 3 copies séparées.

**Sujet 1 : Origine du potentiel électrique de membrane (7 points)**

Soit le modèle cellulaire suivant :



1 Quelles doivent être les concentrations en sodium et chlore internes et en potassium externe pour que ce modèle cellulaire soit à l'équilibre ? Justifiez vos réponses et calculez le potentiel électrique de membrane de ce modèle (à la température de 20°C).  $x$  étant la valence des anions intracellulaires notés  $A^x$  qui ne traversent pas la membrane. Quelle est la valeur de  $x$  ?

2 La membrane des cellules animales étant en réalité perméable aux ions sodium, décrivez la conséquence d'une perméabilité sodique sur le modèle cellulaire précédent et représentez par un schéma légendé le mécanisme qui permet aux cellules animales de résoudre le problème de la perméabilité sodique de leur membrane.

**Sujet 2 : Excitabilité membranaire (3 points par question)**

1 Schéma d'un dispositif expérimental permettant d'obtenir un électrotonus hyperpolarisant. Signification de cette réponse membranaire.

2 Illustrez en vous aidant de schémas précis et légendés l'intérêt d'utiliser du curare dans l'étude de la jonction neuromusculaire.

**Sujet 3 : Physiologie musculaire (7 points)**

1 A l'aide de schémas, détaillez les mécanismes menant à la contraction et à la relaxation d'une fibre musculaire lisse.

2 En quelques lignes, expliquez les raisons pour lesquelles le muscle lisse possède une vitesse de contraction plus lente que celle des muscles striés.

UE DE PHYSIOLOGIE ANIMALE - ECRIT  
SECONDE SESSION - FEVRIER 2010

Durée de l'épreuve : 1 heure. Les calculatrices sont autorisées.  
Les deux sujets seront rédigés sur 2 copies séparées.

**Sujet 1 : Excitabilité membranaire (10 points)**

Comparer grâce à deux **schémas légendés** le potentiel d'action intracellulaire d'un axone géant de calmar et le potentiel d'action d'un nerf enregistré avec des électrodes extracellulaires.

**Sujet 2 : Physiologie musculaire (10 points)**

- 1- En présence d'acétylcholine, **citez** les espèces ioniques transitant via les récepteurs nicotiniques du muscle strié squelettique.
- 2- Pour un potentiel de repos de -70 mV, expliquez, **par le calcul**, le sens de passage des ions au travers des récepteurs nicotiniques (ne faire la démonstration que pour les espèces ioniques concernées).
- 3- Quel est l'effet de l'ouverture des récepteurs nicotiniques sur le potentiel de membrane ? Comment appelle-t-on ce phénomène ?

Température : 37°C.

Milieu interne : 14 mM sodium ; 140 mM potassium ; 14 mM chlore ; 100 nM calcium.

Milieu externe : 140 mM sodium ; 5 mM potassium ; 147 mM chlore ; 1 mM calcium.

**Physiologie Animale L2 - Travaux Pratiques****Potentiel d'action de la cellule nerveuse****2009-2010 – Semestre 1 – Session 2**

On rappelle :  $\log 0.01 = -2$  ;  $\log 0.1 = -1$  ;  $\log 10 = 1$  ;  $\log 100 = 2$

Toute réponse donnée sans préciser l'unité sera considérée comme nulle.

L'orthographe et le soin apporté à la rédaction seront pris en compte dans le barème.

**Partie 1**

Une expérience de potentiel imposé est réalisée sur un axone de calmar à la température de 20°C. Les concentrations externe et interne de sodium sont respectivement 300 mM et 3 mM.

- a) Dans ces conditions, quel est le potentiel d'équilibre du sodium ?
- b) On dépolarise la cellule à partir d'un potentiel maintenu de -60 mV à une valeur de +55 mV pendant 5 ms. Ce changement de potentiel va-t-il déclencher une entrée ou une sortie de sodium de la cellule ? Justifiez votre réponse.

**Partie 2**

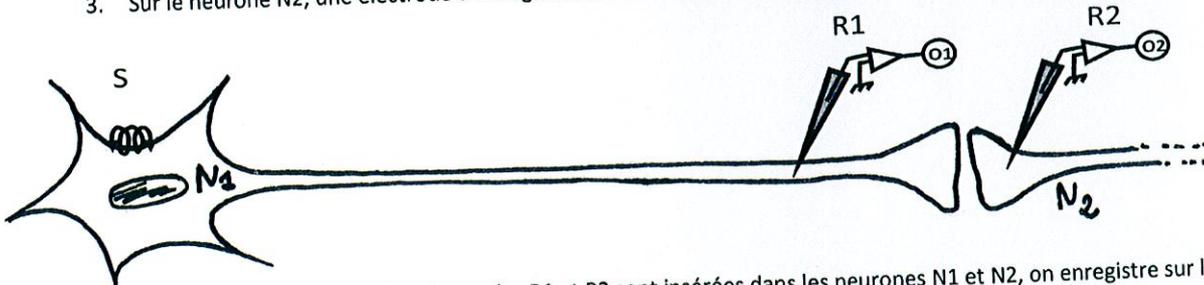
Une expérience de courant imposé est réalisée à l'aide d'une microélectrode intracellulaire sur un axone de calmar à la température de 20°C. Les concentrations externe et interne de sodium sont respectivement 200 mM et 20 mM et les concentrations externe et interne de potassium respectivement 3 mM et 300 mM.

- a) En supposant que la membrane de l'axone est uniquement perméable au potassium au repos, quelle est la valeur mesurée du potentiel de repos de l'axone ? Justifiez.
- b) En réponse à l'injection d'un courant d'intensité supraliminaire, l'axone développe un potentiel d'action. Quels sont les canaux ioniques responsables de la phase de dépolarisation de la cellule ? Vers quelle valeur de potentiel tend la pointe du potentiel d'action ? Justifiez. Pourquoi cependant n'atteint-elle pas cette valeur ?

Université Claude Bernard Lyon1 - UE « Physiologie Cellulaire et Fonctionnelle »  
**EXAMEN ECRIT – Session 2 – juin 2010**

Le dispositif expérimental suivant est mis en place afin d'étudier l'excitabilité neuronale. Brièvement, sur deux neurones d'invertébrés (N1 et N2) sont disposées :

1. Au niveau du corps cellulaire de N1, une électrode (S) reliée à un stimulateur
2. Sur l'axone du neurone N1, une électrode d'enregistrement R1 reliée à un amplificateur et à l'oscilloscope O1
3. Sur le neurone N2, une électrode d'enregistrement R2 reliée à un amplificateur et à l'oscilloscope O2

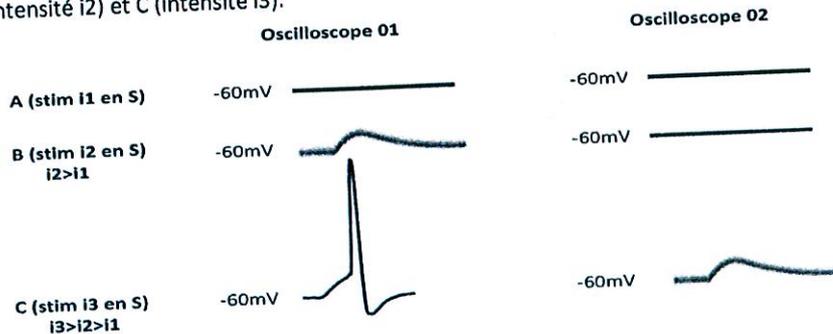


**Question 1** - 8,5pts - Lorsque les électrodes R1 et R2 sont insérées dans les neurones N1 et N2, on enregistre sur les oscilloscopes O1 et O2 les signaux suivants :



- a) 0,5pt- Vous nommerez le signal ainsi enregistré
- b) 6pts- Par un schéma **précis et légendé** vous présenterez les transferts transmembranaires à l'origine de ce signal. Vous vous appuyerez pour cela sur les notions de transport passif des ions, de transport actif des ions, de gradient électrochimique. Vous définirez ces trois notions.
- c) 1pt- Vous définirez la notion de potentiel d'équilibre.
- d) 1pt- Vous expliquerez pourquoi le signal enregistré en O1 et O2 se stabilise à -60mV en vous appuyant sur les notions de potentiel d'équilibre et de perméabilité membranaire.

**Question 2** – 11,5 points - Des stimulations d'intensité croissante (i1, i2 et i3) sont appliquées au niveau de l'électrode S. Les signaux ainsi évoqués sont enregistrés sur les oscilloscopes O1 et O2 et sont présentés respectivement en A (intensité i1), B (intensité i2) et C (intensité i3).



- a) 1,5pts - Oscilloscope 1 : - Vous nommerez les signaux observés avec les différentes stimulations  
 - Vous expliquerez comment l'on passe d'une réponse B à une réponse C
- b) 4pts- Vous schématiserez **précisément** la zone séparant les neurones N1 et N2 et vous la dénommerez.
- c) 4pts - Vous détaillerez les mécanismes mis en jeu pour expliquer les enregistrements obtenus avec la stimulation i3 au niveau de l'oscilloscope O1 puis de l'oscilloscope O2.
- d) 2pts - Vous proposerez une hypothèse pour expliquer les différences observées en B et C au niveau de l'oscilloscope 2

Université Claude Bernard Lyon I

UE « Physiologie Cellulaire et fonctionnelle » BIO2019LP1

EXAMEN ECRIT - Session 1 - Juin 2010

*durée 120 mn*

**les sujets A et B sont à traiter sur 2 copies différentes**

**Sujet A: "Métabolisme" : durée 90 mn**

**Question 1 :** À l'aide d'un tableau comparez le muscle strié squelettique et le muscle cardiaque d'un point de vue anatomique et fonctionnel.

**Question 2 :** Ma tasse à café à la main je regarde ma montre. 7h45 !!! Je suis en retard pour mon cours de 8h !! Je « saute » dans mes baskets et cours à l'arrêt de bus. Pas de chance, aujourd'hui les TCL sont en grève. Mon sac sur le dos j'entame donc un marathon contre la montre pour arriver à l'heure. 8h30 j'arrive enfin, je suis en nage. Décrivez les modifications de mon métabolisme énergétique survenues au cours de ma course.

**les sujets A et B sont à traiter sur 2 copies différentes**

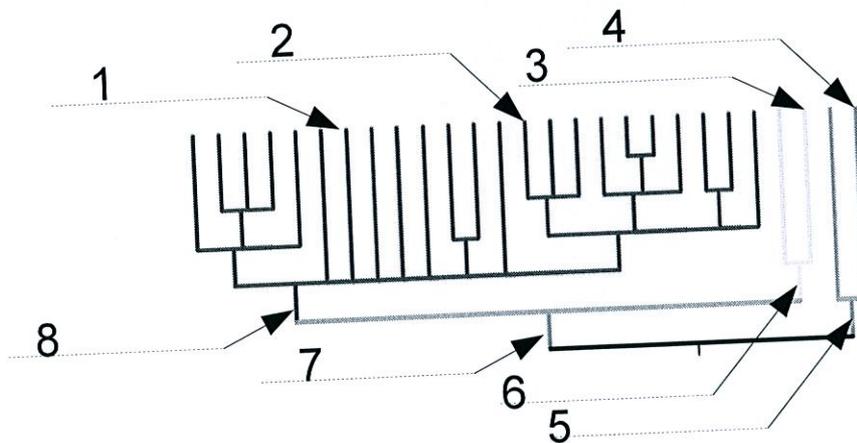
**Sujet B: "Reproduction" : durée 30 mn**

Dressez la liste chronologique, précise, mais concise des différents événements de l'étape de sélection d'un follicule ovarien dominant: durée; période; cellules mobilisées; régulation hormonale et facteurs locaux; etc.

C'est une question courte : Evitez les hors-sujets et les longs développements;

Licence S.T. – UE « Zoologie »  
 Examen de C.M. Session 1 (1h30, C. Douady)

- Q1 Expliquez de façon brève et concise la différence entre clef de détermination et classification phylogénétique (5 lignes max) 3 points
- Q2 Expliquez de façon brève et concise pourquoi la similitude est un concept important en zoologie (10 lignes max) 3 points
- Q3 Confrontez, sous forme d'un tableau synthétique les écoles post-darwiniennes de classification. 2 points
- Q4 Citez quatre synapomorphies des mammifères. 2 points
- Q5 Expliquez de façon brève et concise ce que sont les Therapsides et les Cynodontes. 2 points
- Q6 Les mammifères placentaire sont aujourd'hui classés en 4 super-ordres. Nommez ces 4 super-ordres. Citez deux ordres dans chacun de ces 4 super-ordres. 3 points
- Q7 Citez quatre synapomorphies des oiseaux. 2 points
- Q8 La classification phylogénétique des oiseaux peut être résumée par le schéma suivant. Complétez-le. 3 points



U.E. Zoologie\_L2

Examen Ecrit 2<sup>nd</sup>e session

Partie 1. M. C. des Châtelliers, Durée : 45 mn

Reportez ci-dessous le n° d'anonymat et glissez ce document dans la copie d'examen.

N° d'anonymat :

---

**1<sup>ère</sup> question (2 points) :** En travaux pratiques, le groupe des micromammifères vous a été présenté scindé en deux sous-ensembles, celui des rongeurs et celui des insectivores. Cette partition et l'usage de ces termes se justifient-ils dans un contexte phylogénétique ? Justifiez votre réponse.

**2<sup>ème</sup> question (2 points) :** Donnez une argumentation, brève, justifiant le maintien légitime de ces termes de rongeurs et d'insectivores dans un contexte non phylogénétique, tel que celui d'un inventaire faunistique ou d'une vulgarisation scientifique auprès du public.

3<sup>ème</sup> question (2 points): Donnez une définition d'un caractère en systématique.

Sur les deux planches ci-dessous, faites ressortir le ou les caractères distinctifs des rongeurs et des insectivores.

Planche 1

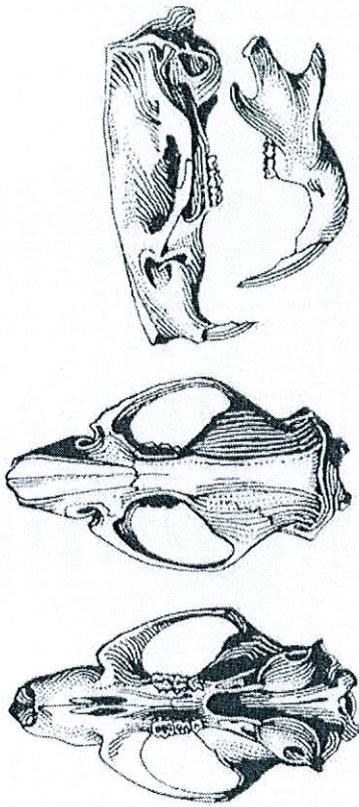
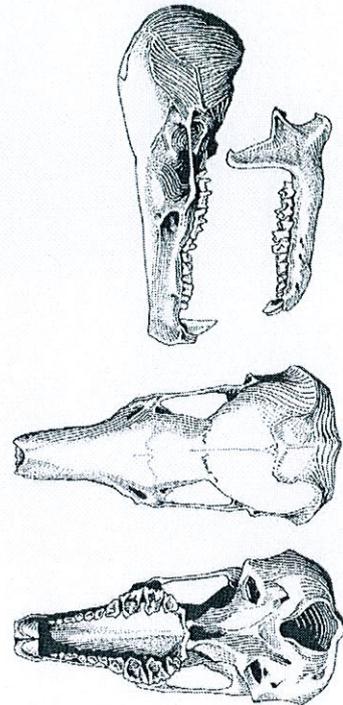


Planche 2

Mammifère pygmaïque



## N° d'anonymat :

**4<sup>ème</sup> question (4 points):** Dans le texte ci-dessous, extrait d'un article sur les rongeurs, l'éditeur d'un texte, peu au fait des règles d'écriture dans la nomenclature zoologique, a commis des erreurs graves. Soulignez ces erreurs dans le texte et inscrivez la correction dans la marge.

### Extrait du texte

### corrections proposées

<<Les campagnols souterrains du genre *microtus* (ex *pitymys*) de petite taille (sous-genre *Terricola*), aussi bien ceux du paléarctique que ceux du néarctique, s'identifient par leur première molaire inférieure,  $M_1$ , caractérisé par la présence d'un rhombe pitymyen (losange). Ils étaient rattachés au genre *Pitymys* (MacCurtie, 1831), genre créé pour le campagnol sylvestre d'Amérique *Psammomys Pinetorum* aujourd'hui appelé *Microtus Pinetorum* (1830, Le Conte). Récemment, à la suite d'analyses génétiques, toutes ces espèces ont été rangées dans le genre *Microtus* (Schrank, 1798). Toutefois la discussion n'est pas close. A la suite des travaux de Chaline *et al.*, qui estiment que ces campagnols du paléarctique et du néarctique ont évolués indépendamment, les anciens *Pitymys* sont actuellement attribués à deux sous-genres dans le genre *Microtus* :

- *Microtus* (*Terricola*) (Fatio, 1867) pour ceux du paléarctique avec comme type *Microtus* (*Terricola*) *subterraneus* (de Sélys-Longchamps, 1836).
- *Microtus* (*pitymys*) (MacCurtie, 1831) pour ceux du néarctique avec comme type *Microtus pinetorum* (Le Conte, 1830).

Sur les 12 espèces du sous-genre *terricola* d'Europe de l'Ouest connues aujourd'hui, six sont présentes sur le territoire Français>>.

Partie 2. B. Kaufmann. 20 minutes. Répondre directement sur la feuille.

Reportez ci-dessous le n° d'anonymat et glissez ce document dans la copie d'examen.

N° d'anonymat :

« Reptiles » et Amphibiens

1. Justifiez les «\_\_» placés autour du mot « reptile » (/1)

2. Quelle solution proposez vous pour s'en débarrasser tout en respectant les règles de la phygénèse et de la taxinomie actuelle ? (/1)

3. Donnez les ordres de « reptiles » actuels. (/1)

4. Donnez et expliquez les deux adaptations ayant permis aux « reptiles » de pouvoir se passer complètement du milieu aquatique. (/1)

5. Nommez les genres de « reptiles » présents en Rhône-Alpes, et précisez pour chacun l'ordre auquel ils appartiennent (/1)

Partie 3. S. MÉRIGOUX et B. KAUFMANN. 25 minutes. Répondre directement sur la feuille.

Les Arthropodes

1. Donnez 2 synapomorphies des Arthropodes (/0.5)

---

2. Définissez le mot tagme et donnez en un exemple commenté (structure et fonctions !) (/1)

---

3. Définissez le mot appendice et donnez en un exemple commenté (structure et fonctions !) (/1)

---

4. Dans quel ordre de chélicériformes trouve-t-on des animaux possédant un hypostome ? (/0.5)

---

5. Nommez et définissez les types de développement post-embryonnaires chez les hexapodes. (/2)

---

BIO 2025 L

**Licence Sciences et Technologies - Examen de janvier 2010**

-----  
**UE « Biologie des Organismes 2 » (UEC « Biologie Animale »)**

*Outre les connaissances scientifiques, il sera tenu compte dans la notation de la qualité des schémas, de la présentation, de l'orthographe et de la concision. Durée = 1h.*

**Question** : à l'aide de **plusieurs schémas** simples (légendés) associés à un court texte, présentez **l'embryogenèse des reins chez les Mammifères**.

**BO2 : Anatomie Comparée des Vertébrés**  
**TP BOA, contrôle continu n°2 - janvier 2010**

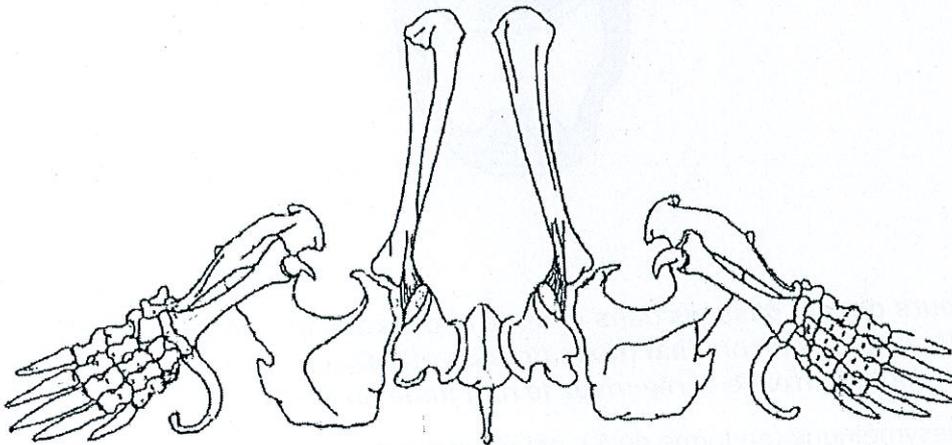
Nom :

Prénom :

N° étudiant :

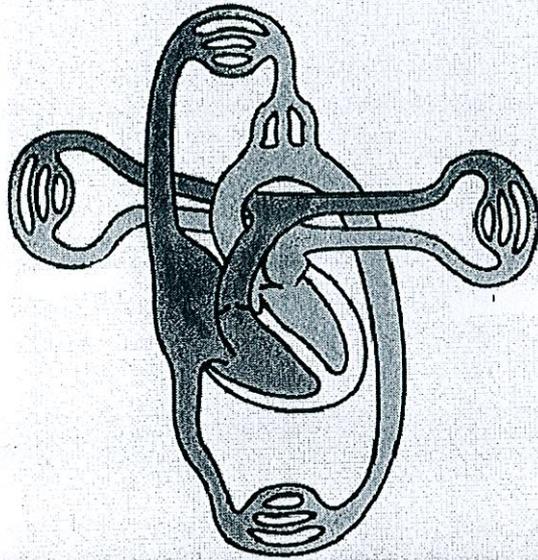
Epreuve à composer directement sur cette feuille – Durée : 1h  
*Ne pas anonymiser (sujet de TP)*

Exercice 1a : Titrez et légendez ce dessin



Exercice 1b : A quel mode de vie cet animal est-il adapté ? Justifiez votre réponse en décrivant les adaptations fonctionnelles de cette partie de son squelette.

**Exercice 2 : Titrez et légendez ce schéma**



**Exercice 3 : Des erreurs ont été glissées dans le texte ci-dessous qui décrit le système circulatoire antérieur chez le poisson-chat (texte tiré de votre fascicule de TP). Lorsque vous pensez qu'un mot est faux, barrez-le et réécrivez le mot juste en dessous.**

Le cœur, nettement dissymétrique (en forme de S), est constitué de l'arrière vers l'avant d'un sinus veineux à parois épaisses dans lequel confluent latéralement les canaux de cuvier (eux-mêmes correspondant à la confluence des veines cardinales antérieures et postérieures) et postérieurement la veine sus-hépatique. Le sinus veineux débouche dans le ventricule de forme triangulaire, au dessus duquel se trouve l'atrium musculueux. Ce dernier se poursuit en avant par le bulbe artériel.

Du bulbe artériel part l'aorte dorsale de laquelle se détachent les artères branchiales efférentes, en direction des branchies. La disposition de ces artères est variable selon les familles. Généralement, les 2 premières paires (antérieures, correspondant aux 2 premiers arcs viscéraux) partent directement et symétriquement de l'aorte, alors que les départs des deux dernières paires peuvent être plus ou moins réunies. Chez le poisson-chat, ces deux dernières paires d'artères partent d'un seul et même tronc artériel.

Le cœur n'est traversé que par du sang oxygéné, l'hématose s'effectuant au niveau des branchies. Des artères branchiales afférentes conduisent ensuite le sang carbonaté aux deux racines aortiques qui confluent au niveau de l'aorte ventrale, conduisant elle-même le sang en direction des organes. Le système circulatoire postérieur, plus difficile à mettre en évidence, ne sera pas étudié ici.

FIN

## BO2 : Anatomie Comparée des Vertébrés CC n°2 de TP BOA, juin 2010

<b>Nom :</b>	<b>Prénom :</b>	<b>N° étudiant :</b>
--------------	-----------------	----------------------

Epreuve à composer directement sur ces 2 feuilles – Durée : 1h

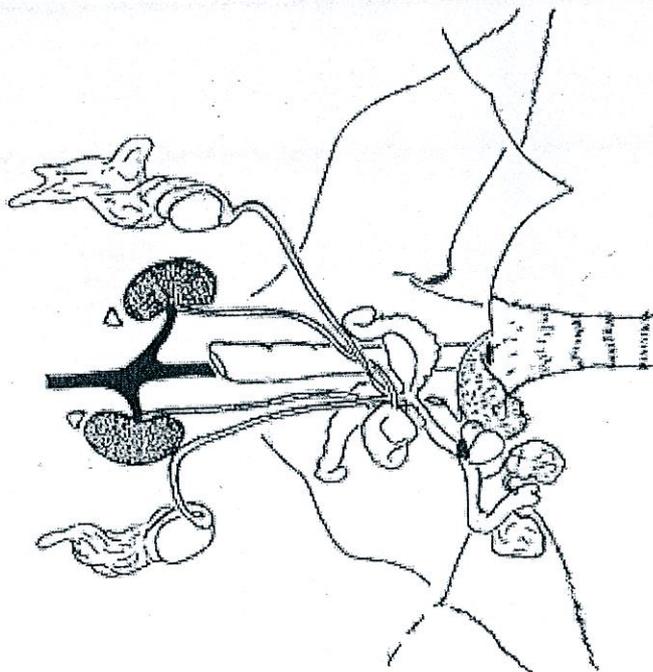
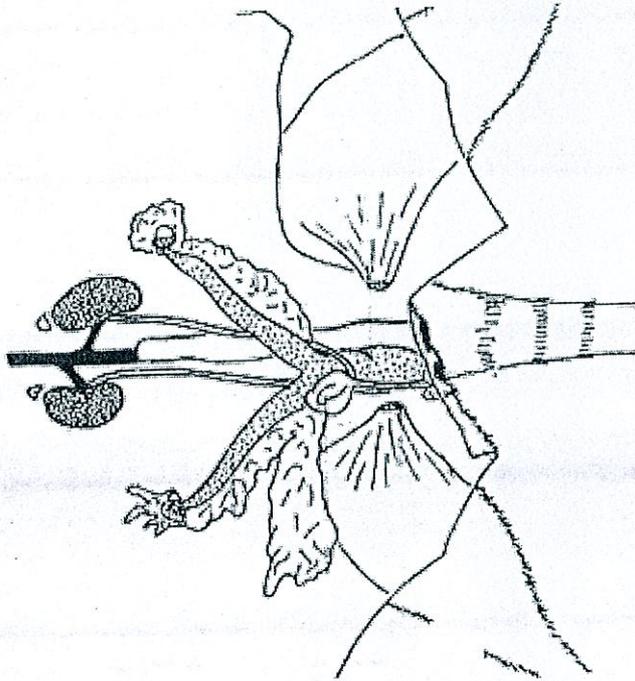
**Exercice 1 :**

**1a)** Faites ci-dessous un schéma légendé du système circulatoire antérieur chez un oiseau *(ce n'est pas la qualité graphique du schéma qui sera notée, mais sa présentation, la pertinence des légendes ainsi que la justesse des liens anatomiques que vous montrerez entre les différents organes)*. (4 points)

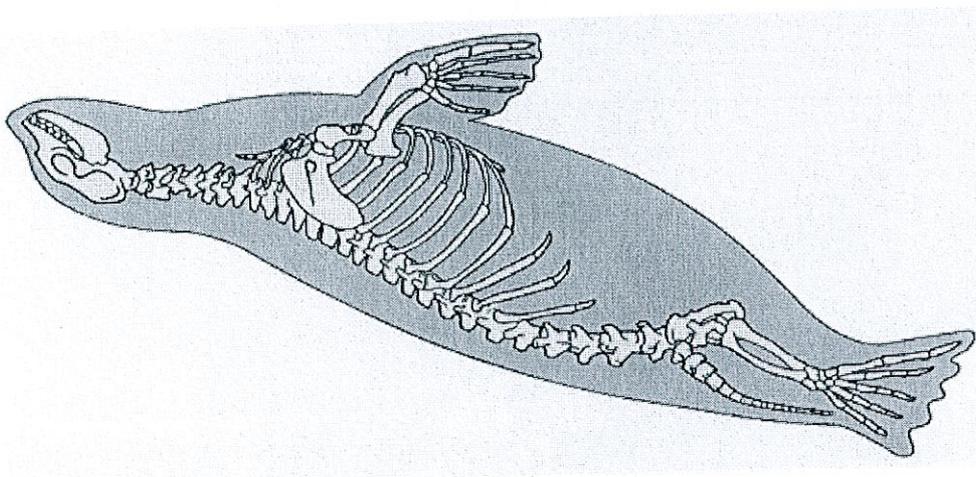
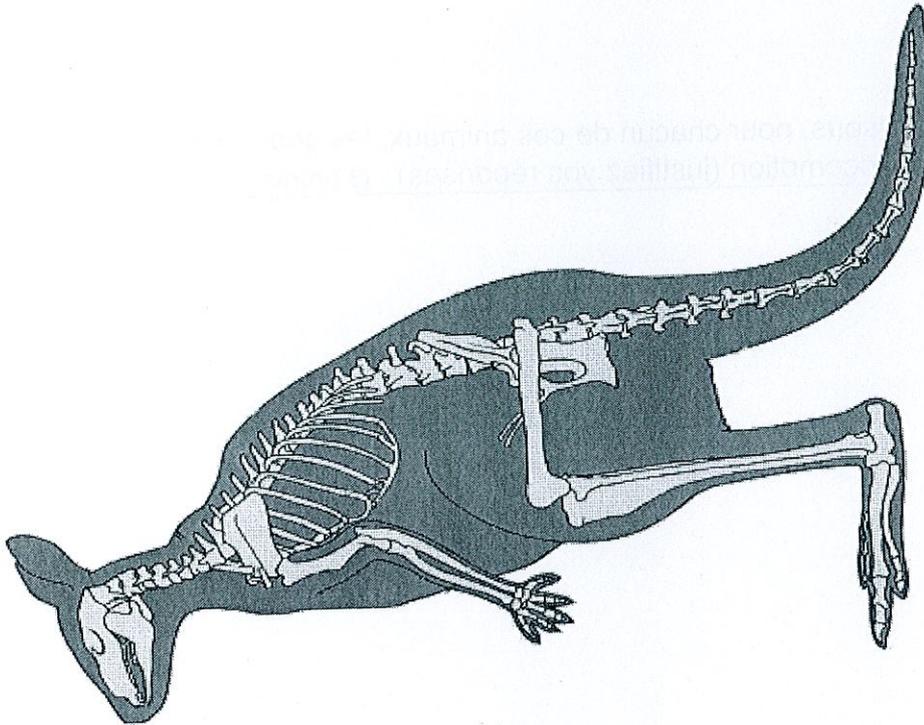
**1b)** Quelle est la principale différence entre ce système et son équivalent chez un mammifère ?  
(1 point)

## Exercice 2

Légendez ces schémas. (5 points)



Exercice 3 : 3a) Légendez ces schémas. (source = <http://www.fofweb.com/>)  
(5 points)

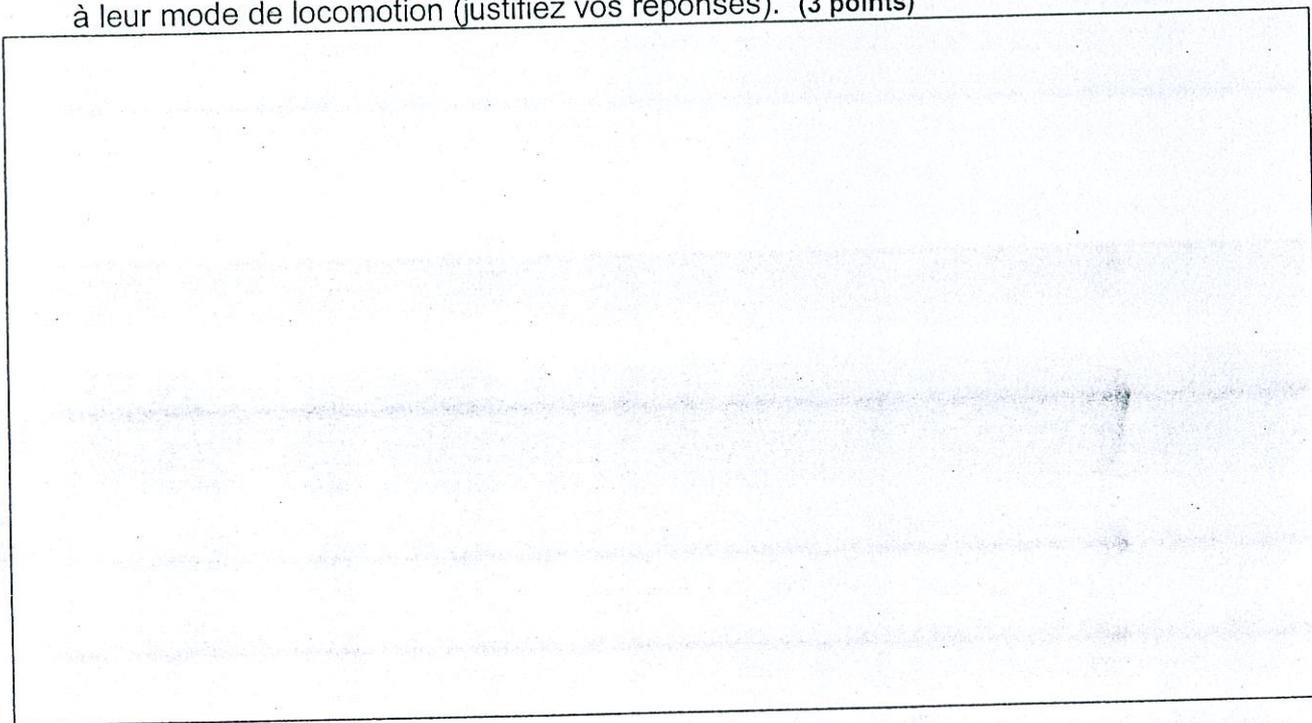


Nom :

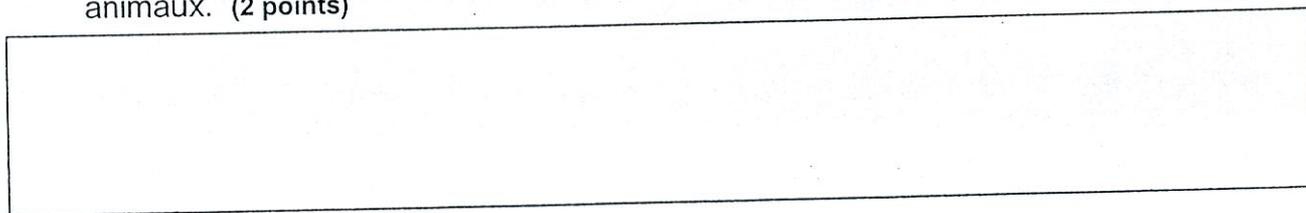
Prénom :

N° étudiant :

3b) Indiquez ci-dessous, pour chacun de ces animaux, les adaptations squelettiques propres à leur mode de locomotion (justifiez vos réponses). (3 points)



3c) Donnez un exemple de synapomorphie et un exemple de convergence entre ces deux animaux. (2 points)



FIN

BIO 2025 L

***UE « Biologie des Organismes 2 »***

*Cours de P. Sagnes*

**Contrôle Continu n°2 (juin 2010)**

**Epreuve écrite de BOA (1h) à rédiger sur une copie d'examen**

Calculatrices interdites.

**Sujet :** A l'aide de quelques schémas bien légendés (pas de texte explicatif supplémentaire SVP), expliquez l'évolution de la structure du cœur depuis les "poissons" téléostéens jusqu'aux mammifères.

L2 BGSTU, UE de Biochimie et Biologie Cellulaire

BIO2027L  
janvier 2010 session 2

Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)  
Durée : 45 minutes

Question 1 : Expliquer les mécanismes moléculaires liés à la diapédèse.

Question 2 : Structure et fonction des lamines.

Question 3 : Donner les caractéristiques ultrastructurales, moléculaires et fonctionnelles des jonctions intermédiaires.

**Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**

Durée 30 minutes – Calculatrices non autorisées

Question n°1 : Expliquer le rôle des molécules d'adhérence lors de la diapédèse.

Question n°2 : Donner les caractéristiques ultrastructurales, biochimiques et fonctionnelles des jonctions serrées.

**Sujet de Travaux Dirigés et Pratiques de Biologie Cellulaire  
(à rédiger sur une copie séparée)**

Durée 30 minutes – Calculatrices non autorisées

**➤ Exercice de Travaux Dirigés (durée conseillée 20 minutes)**

Des cellules HeLa ont été transfectées par différents vecteurs d'expression codant chacun une protéine recombinante :

- la protéine Francine (de masse moléculaire de 60 kDa) pourvue d'une étiquette HA,
- la protéine Mauricette (de 80 kDa),
- la protéine Gervaise (de 50 kDa),
- la protéine Augustine (de 70 kDa) pourvue d'une étiquette FLAG.

72 heures après la transfection, les cellules HeLa ont été lysées dans un tampon contenant du triton X-100. Le lysat cellulaire est alors centrifugé à 10000 g pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré et est soumis à une immunoprécipitation (IP) avec un anticorps anti-HA ou anti-FLAG puis est analysée par Western blotting (WB) avec différents anticorps.

Le résultat des associations physiques entre les différentes protéines, démontrées par la technique de co-immunoprécipitation, est indiqué sur la Figure n°1.

Question : A l'aide des informations présentées sur la Figure n°1, vous devrez replacer, sur chaque membrane de la Figure n°2, les bandes détectées par Western blotting (WB) après les différentes immunoprécipitations effectuées (IP).

Pour chaque série d'immunoprécipitations sont indiqués les vecteurs d'expression transfectés. Pour chaque membrane sont indiqués les anticorps utilisés pour la révélation, ainsi que le marqueur de masse moléculaire (exprimé en kDa).

**Répondre directement sur la feuille. Toutes les erreurs seront pénalisées. Indiquer votre numéro d'anonymat.**

**➤ Exercice relatif aux Travaux Pratiques (durée conseillée 10 minutes)**

Observez attentivement la photographie qui vous est fournie (Page 3). Légendez les structures histologiques indiquées et donnez un titre à ce document.

**Répondre directement sur la feuille. Toutes les erreurs seront pénalisées. Indiquer votre numéro d'anonymat.**

N° Anonymat :

Figure n°1

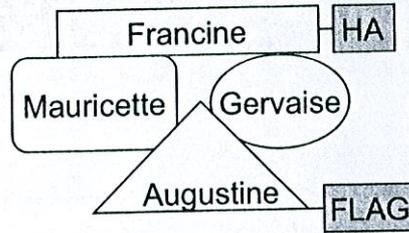


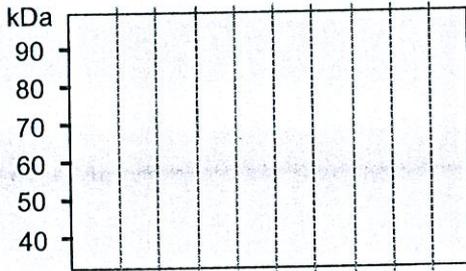
Figure n°2

Vecteurs transfectés:

Francine-HA	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Mauricette	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
Gervaise	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Augustine-FLAG	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+

Francine-HA	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
Mauricette	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-
Gervaise	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Augustine-FLAG	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-

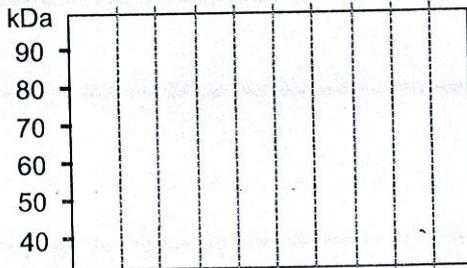
IP: anti-HA      WB : anti-Francine



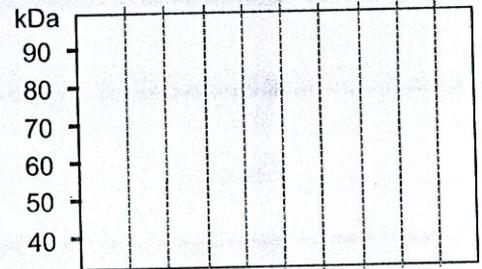
IP: anti-FLAG      WB : anti-Francine



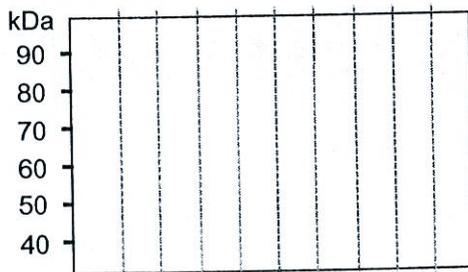
IP: anti-HA      WB : anti-Mauricette



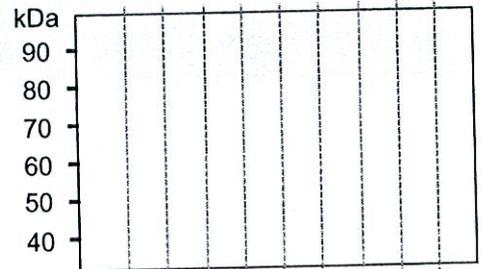
IP: anti-FLAG      WB : anti-Mauricette



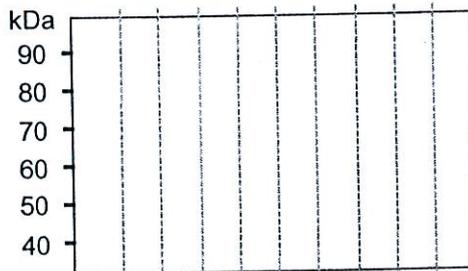
IP: anti-HA      WB : anti-Gervaise



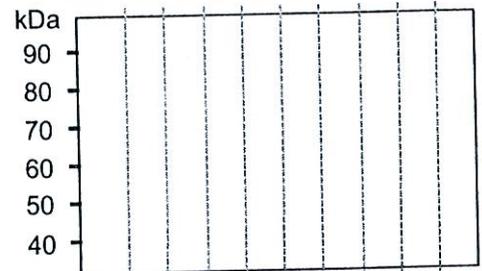
IP: anti-FLAG      WB : anti-Gervaise



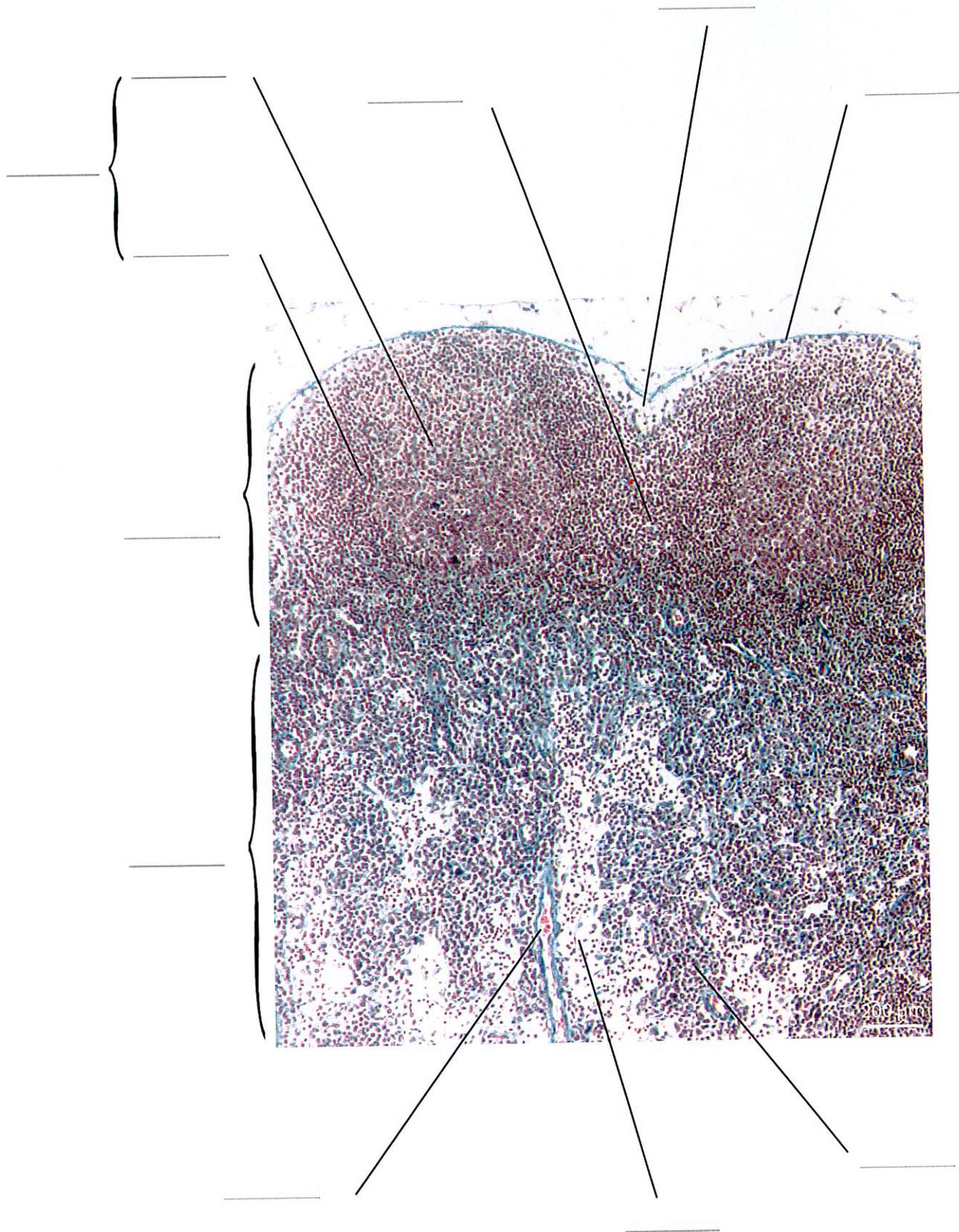
IP: anti-HA      WB : anti-Augustine



IP: anti-FLAG      WB : anti-Augustine



Numéro d'anonymat :



Titre : \_\_\_\_\_

**Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**  
**Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées**

Question 1 : L'endocytose dépendante de la clathrine.

Question 2 : Mécanisme d'action des hormones lipidiques.

**Sujet de Travaux Dirigés de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**  
**Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées**

Il existe un dialogue entre les jonctions cellule-cellule et les jonctions cellule-matrice dans les cellules épithéliales. Les jonctions serrées et d'adhérence sont les jonctions intercellulaires les plus représentées dans ces cellules. Les jonctions cellule-matrice sont formées, quant à elles, par l'interaction des intégrines avec les protéines de la matrice extracellulaire, comme le collagène, la fibronectine, et la laminine. Les jonctions cellule-matrice impliquant les intégrines régulent la formation et la stabilité des jonctions intercellulaires. Les nectines sont des protéines récemment identifiées qui interviennent dans les jonctions cellule-cellule. Il existe 4 protéines nectine (nommées nectine-1 à nectine-4) qui peuvent former des dimères de façon indépendante de la présence de calcium.

Expérience n°1 : Des cellules épithéliales MDCK cultivées jusqu'à confluence ont été fixées et la localisation des protéines cadhérine-E, nectine-3 et intégrine  $\alpha_v\beta_3$  a été analysée par immunofluorescence indirecte en utilisant un microscope à épifluorescence (Figure n°1).

*Question n°1 : Qu'observez-vous ? Que pouvez-vous conclure de cette expérience (Figure n°1) ?*

Expérience n°2 : Des fibroblastes NIH3T3 ont été mis en contact avec des microbilles en latex (astérisque, Figure n°2) recouvertes par différentes protéines, soit par le domaine extracellulaire de la protéine nectine-1 couplé au fragment Fc des immunoglobulines G (IgG) (Nectine-1-FC-IgG), soit par des IgG contrôles (IgG) (Figure n°2). La localisation des billes et leur interaction avec les cellules ont été mises en évidence par contraste de phase, alors que la localisation des protéines nectine-3 et intégrine  $\alpha_v\beta_3$  a été analysée par immunofluorescence indirecte à l'aide d'un microscope à épifluorescence. L'encart (en haut à droite) correspond à un agrandissement de la zone contenant la bille et le trait en pointillé correspond à la localisation de la membrane plasmique des cellules.

*Question n°2 : Qu'observez-vous ? Qu'en déduisez-vous ?*

Expérience n°3 : Sur la Figure n°3, des cellules épithéliales HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , Flag-nectine-1, Flag-nectine-2, Flag-nectine-3, et Flag-nectine-4. Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide d'un anticorps anti-Flag et analysée par Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués.

*Question n°3 : Définissez et décrivez la méthodologie du Western blotting.*

*Question n°4 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de cette expérience ?*

Expérience n°4 : Sur la Figure n°4, des cellules HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , et GFP-cadhérine-E. Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide d'un anticorps anti-GFP, et analysée par Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués.

*Question n°5 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de ces expériences ?*

Expérience n°5 : Enfin, des cellules HEK293 ont été transfectées de façon transitoire avec différentes combinaisons de vecteurs codant les protéines intégrine  $\alpha_v$ , intégrine  $\beta_3$ , Flag-nectine-3- $\Delta$ CP (dépourvue de son domaine cytoplasmique), et Flag-nectine-3- $\Delta$ EC (dépourvue de son domaine extracellulaire). Les cellules ont été lysées, la moitié du lysat a été soumise à un Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués, l'autre moitié a été immunoprécipitée (IP) à l'aide de l'anticorps anti-Flag, et analysée par Western blotting (WB) avec les anticorps indiqués (Figure n°5).

*Question n°6 : Qu'observez-vous ? Que déduisez-vous de cette expérience ?*

*Question n°7 : Dressez un schéma récapitulatif des différentes interactions protéiques démontrées dans ces expériences (sur les Figures n°3 à 5). Pour ceci, vous représenterez les protéines avec leurs différents domaines (cytoplasmique, extracellulaire et transmembranaire) et vous indiquerez la membrane plasmique de la cellule. Pensez à orienter votre schéma !*

Figure n°1

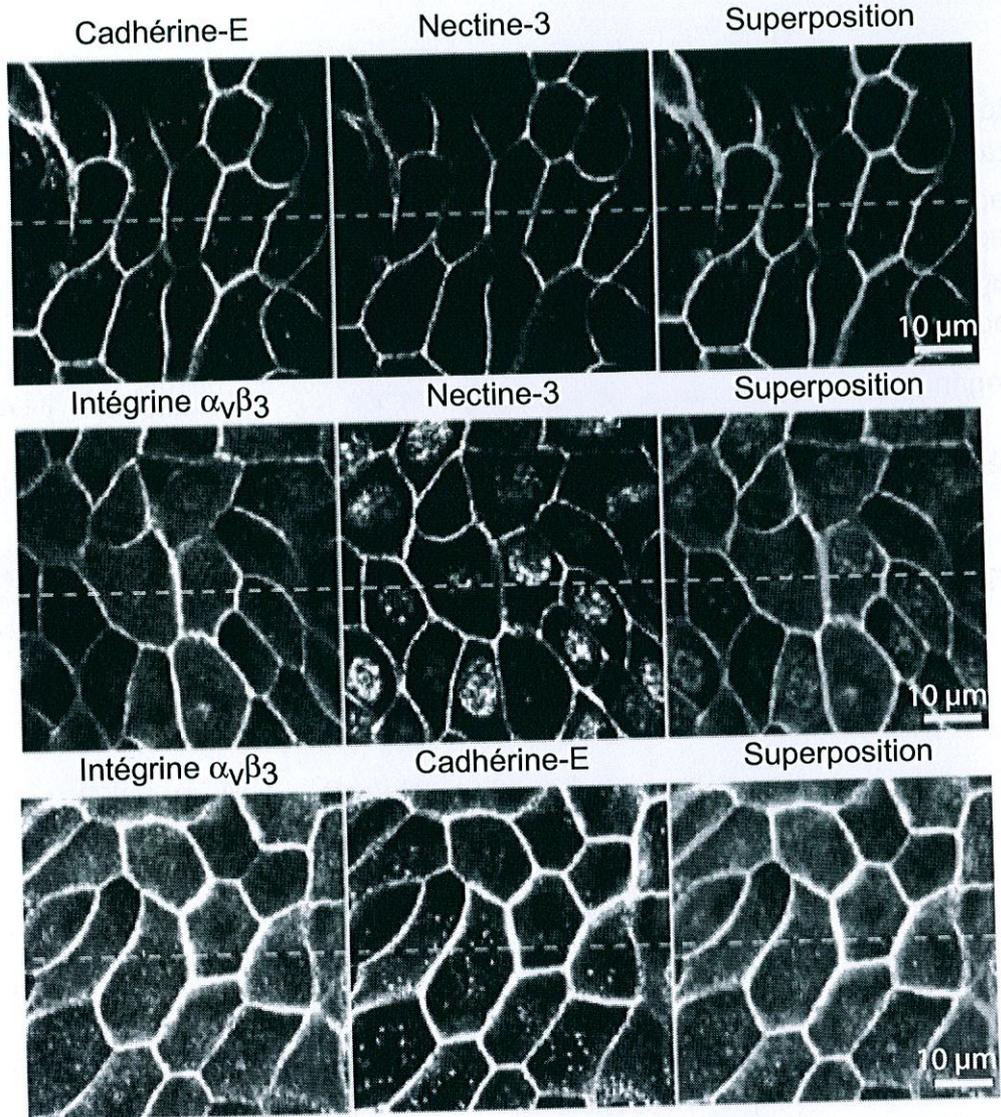


Figure n°2

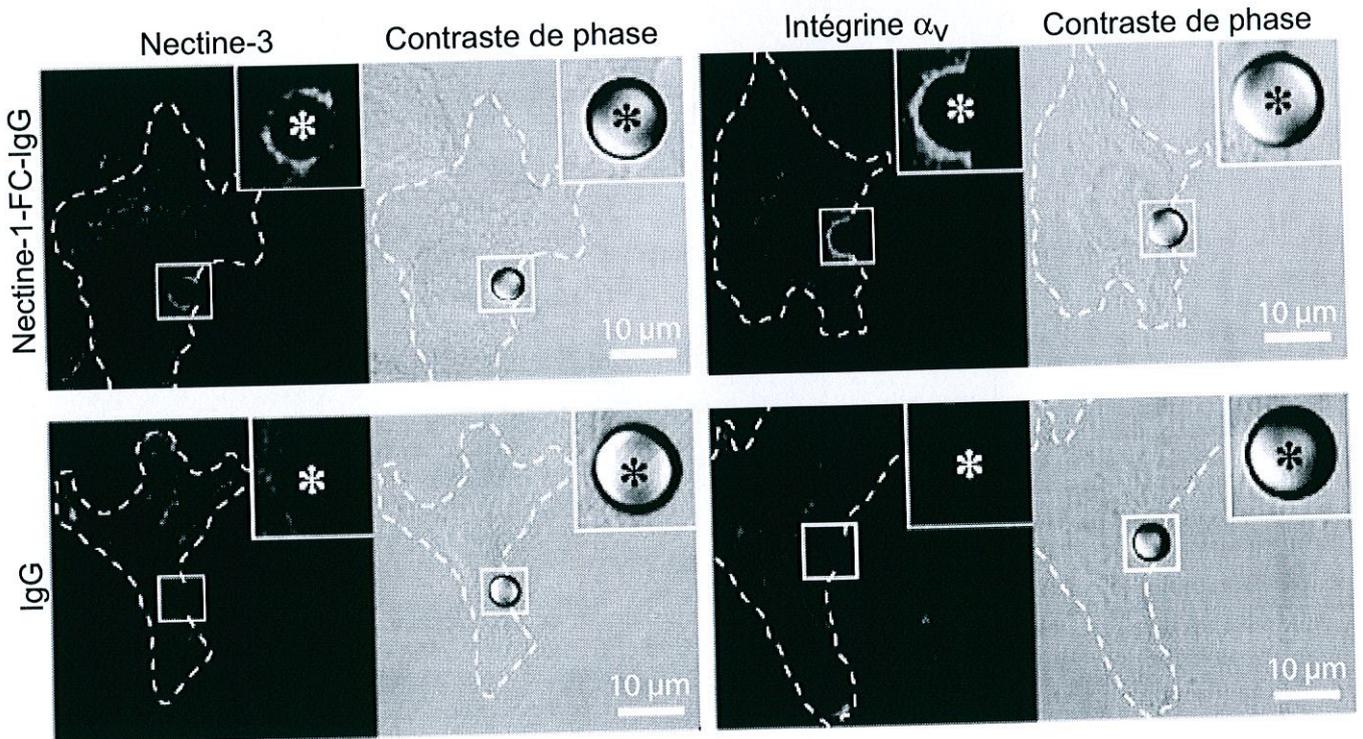


Figure n°3

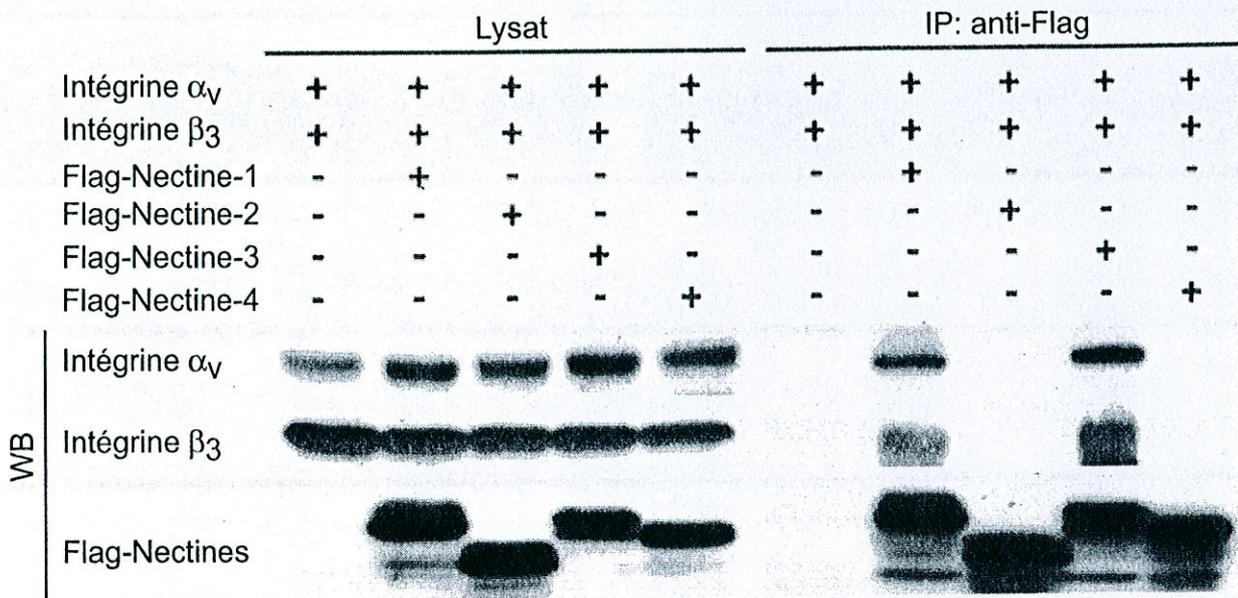


Figure n°4

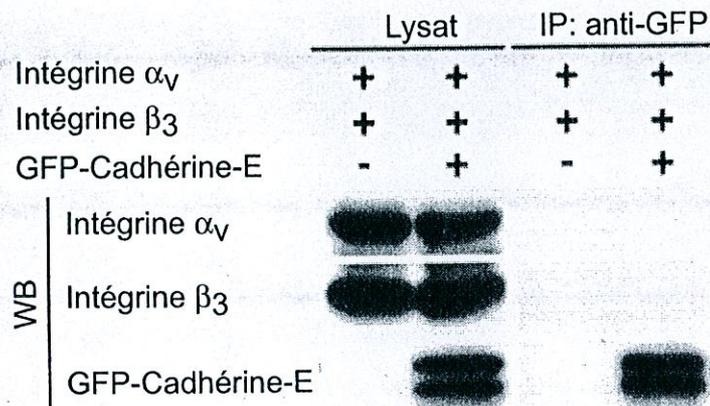
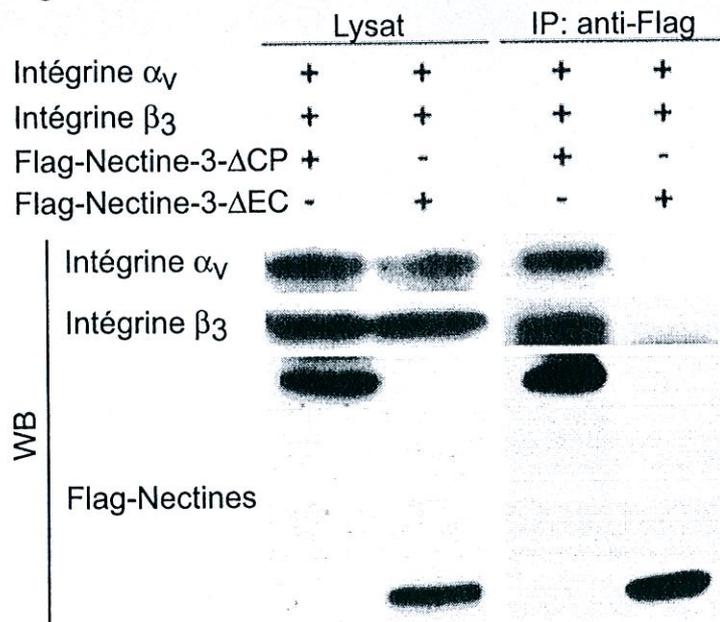


Figure n°5



**BIO2028LP1 -Introduction à la Biologie Cellulaire et à l'Immunologie**  
**Examen d'IMMUNOLOGIE –janvier 2010 (Durée 1h30)**

**RENDRE 2 COPIES**

Questions de cours (1 copie, 10 points)

- 1- Définissez les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. Précisez quelles cellules les expriment, par quoi elles sont reconnues, quelles sont leurs fonctions et leurs particularités (3 points).
- 2- Lors d'une infection par des bactéries extracellulaires, quels peuvent être le rôle d'anticorps dirigés contre les antigènes portés par ces bactéries ? Expliquez chacun de ces rôles en 3 lignes maximum (3 points).
- 3- Lors de la mise en place d'une réponse immunitaire adaptative dirigée contre des bactéries extracellulaires, quelles sont les cellules immunitaires impliquées, depuis la détection des bactéries jusqu'à leur élimination. Expliquez pour chacune des cellules impliquées leur rôle et schématisez les interactions moléculaires entre ces cellules (4points).

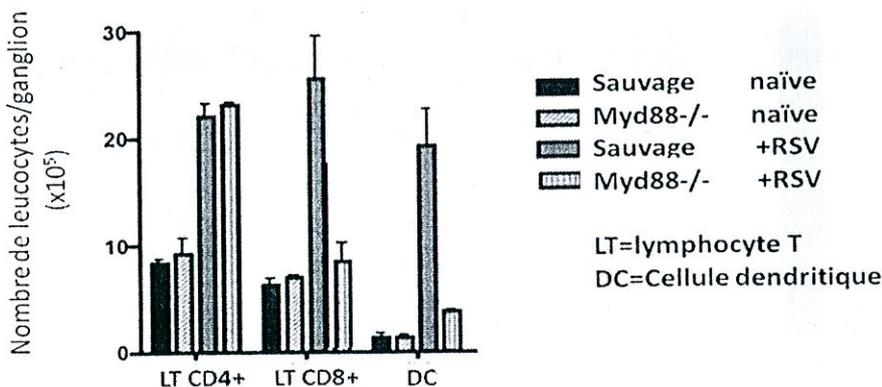
Exercice (1 copie, 10 points). (Expliquez vos réponses de la façon la plus concise et précise possible)

L'infection par le virus syncytial respiratoire (RSV) est la principale cause des maladies respiratoires chez l'enfant en bas âge. Très contagieux, ce virus infecte principalement les enfants de moins de deux ans. Le virus infecte les cellules épithéliales du tractus respiratoire dans sa partie supérieure puis diffuse vers les voies respiratoires inférieures. Une infection par le RSV peut se compliquer et devenir une bronchiolite qui peut entraîner dans des cas exceptionnels l'hospitalisation de l'enfant.

Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en place lors de la réponse immunitaire adaptative contre RSV, une équipe de recherche a utilisé un modèle de souris pour l'étude de cette infection virale.

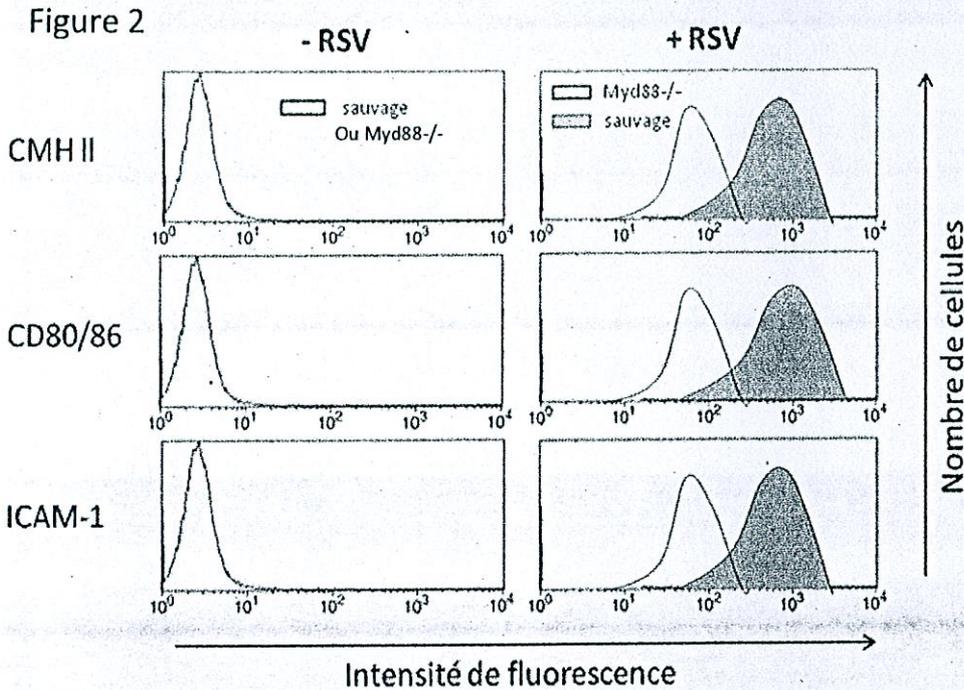
**Figure1 :** Des souris sauvages ou des souris dont le gène codant pour la protéine cytoplasmique adaptatrice Myd88 a été invalidé (absence d'expression de Myd88 = Myd88<sup>-/-</sup>), ont été infectées par RSV (+RSV) ou non (naïve). Les ganglions à proximité des poumons (ganglions drainants) ont été prélevés 7 jours après l'infection et l'accumulation de leucocyte a été évaluée.

**Figure 1**



Analysez les résultats obtenus. Quels sont les cellules recrutées au site de l'infection ? Quelles sont les conséquences de l'invalidation de Myd88 ? (1 point)

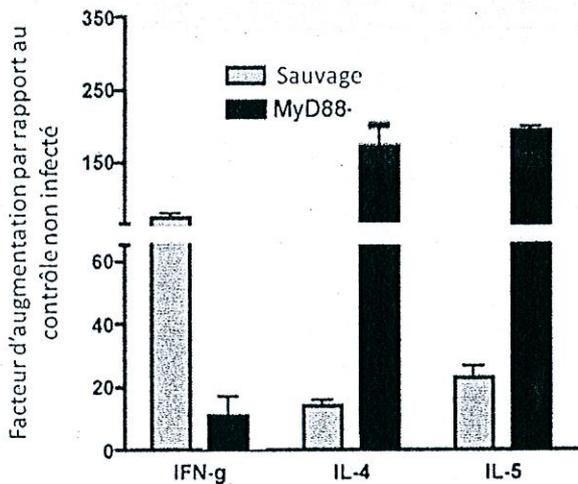
**Figure 2 :** les cellules dendritiques présentes dans les poumons de souris ayant été infectées (+RSV) ou non (-RSV) ont été purifiées 7 jours après l'infection. Deux groupes de souris ont été utilisés, l'un sauvage, l'autre invalidé pour Myd88. L'expression de différentes protéines de surface (CMHII, CD80/86, ICAM-1) a été analysée par cytofluorométrie.



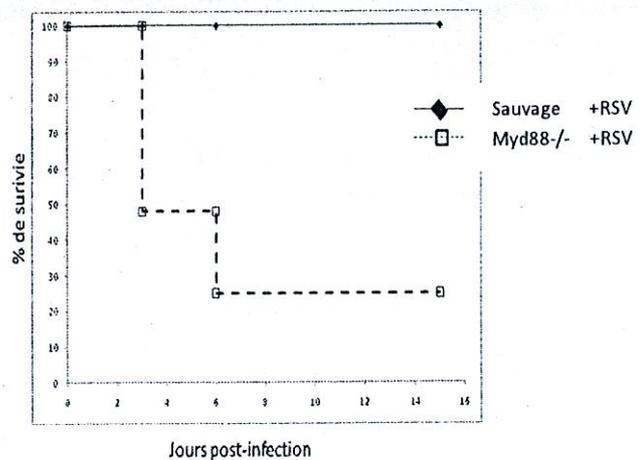
Analysez les résultats obtenus. Quelles est la conséquence de l'infection RSV sur les cellules dendritiques sauvages ? Sur les cellules invalidées pour Myd88 ? (1 points)

**Figure 3 :** L'ensemble des lymphocytes T présents dans les ganglions lymphatiques drainant les poumons de souris infectées, a été prélevé 12 jours après l'infection par RSV. Les lymphocytes T sont ensuite restimulés in-vitro par l'ajout d'anticorps agonistes anti-CD3 et anti-CD28. L'interféron gamma (IFNg), l'interleukine 4 (IL4) et 5 (IL5) sont dosés dans les surnageants de culture (figure 3A). Le pourcentage de survie est déterminé pour chacun des deux types de souris infectées et représenté sur la figure 3B.

**Figure 3 A**

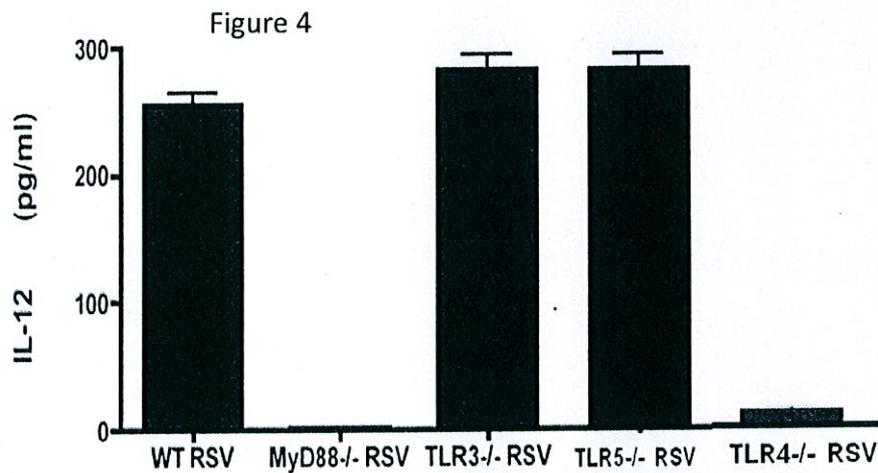


**figure 3 B**



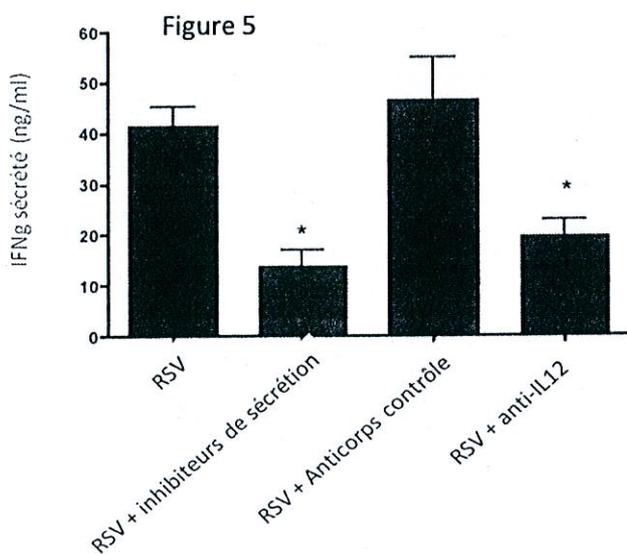
D'après vos connaissances et les résultats obtenus dans cette expérience, quel type de réponse immunitaire adaptative est mis en place dans les souris sauvages? Quel type de réponse est observée dans les souris Myd88-/- ? Quelle réponse est la plus adaptée pour résoudre l'infection RSV (2 points)

**Figure 4 :** Afin de comprendre quels sont les récepteurs et les molécules impliqués dans l'initiation de la réponse immunitaire, différents gènes codants pour des PRR (Pattern-Recognition-Receptor : TLR3, TLR4 et TLR5) ont été invalidés chez des souris. Des souris Myd88<sup>-/-</sup> sont aussi utilisées dans ces expériences. Ces souris ont ensuite été infectées par RSV. Après 7 jours la concentration sérique en IL12 a été mesurée. (WT=souris sauvage)



Analysez ces résultats en précisant quel est (sont) le (ou) les PRR capable(s) de lier le virus RSV. Quelle autre protéine étudiée est impliquée dans la sécrétion d'IL12 ? Quelles cellules produisent l'IL-12 ? (2 points)

**Figure 5 :** Des souris sauvages sont infectées par RSV. 7 jours après l'infection les cellules dendritiques présentes dans les ganglions drainants des poumons ont été purifiées et mises en présence de lymphocytes T naïfs syngéniques. Différentes conditions sont testées : en présence d'un inhibiteur de sécrétion, en présence d'un anticorps contrôle ou d'anticorps neutralisant l'IL12 (\*=significativement différent de la condition RSV).



Analysez ces résultats. Dans cette expérience quelles cellules sont responsables de la production d'IFNγ ? (1point)

A la vue de l'ensemble des résultats présentés dans les 5 figures de l'exercice, schématisez la mise en place de la réponse immunitaire adaptative dirigée contre RSV. Vous préciserez les organes, les cellules, les interactions moléculaires entre les différents types cellulaires et les facteurs solubles impliqués dans cette réponse. (3 points)

**BIO2028LP1 -Introduction à la Biologie Cellulaire et à l'Immunologie**  
**Examen d'IMMUNOLOGIE –janvier 2010 (Durée 1h)**

**RENDRE 2 COPIES**

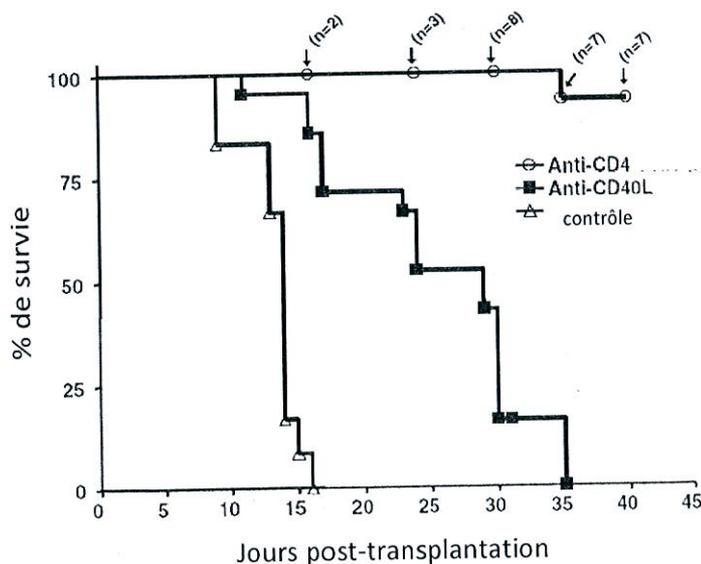
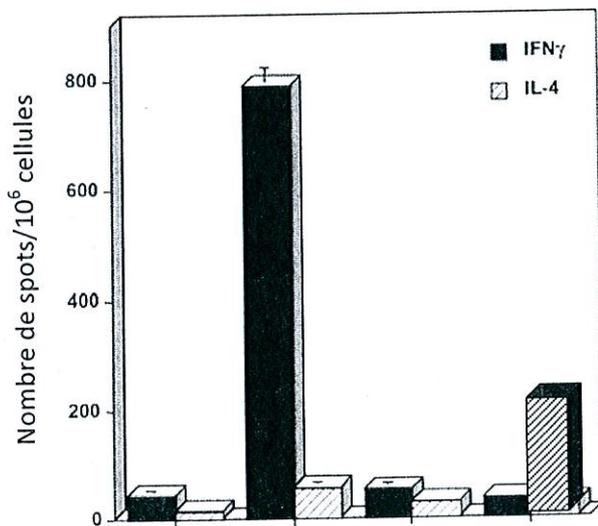
Questions de cours (1 copie, 7 points)

1. Rappelez en quelques lignes la nature de toutes les cellules présentes dans le sang ainsi que leurs fonctions principales. Précisez quelles sont les cellules les plus nombreuses (3 points)
2. Schématisez un organe lymphoïde primaire et un organe lymphoïde secondaire de votre choix-. Précisez la localisation des cellules, les zones de contacts cellulaires éventuels, de développement et/ou d'activation (4 points).

Exercice de TD (1 copie, 13 points). (Expliquez vos réponses de la façon la plus concise et précise possible)

Afin de mieux comprendre les mécanismes immunologiques mis en jeu lors du rejet de greffes et d'évaluer l'intérêt d'une immunothérapie utilisant des anticorps antagonistes, une série d'expériences est réalisée sur un modèle de souris :

**Expérience1** : des souris d'une souche appelée C57BL/6 (souris receveuses) sont greffées ou non avec un cœur issu de souris **allogéniques** appelées BALB/c (souris donneuses). Les souris sont ensuite traitées ou non par injection d'un anticorps anti-CD4 déplétant (éliminant physiquement les cellules exprimant CD4) ou d'un anti-CD40L antagonistes. 6 jours après la transplantation les cellules de rate des souris sont prélevées et la fréquence des cellules produisant de l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ) ou produisant de l'interleukine 4 (IL4) est déterminée par ELISPOT (figure 1A). Parallèlement la survie des souris C57BL/6 greffées et traitées par immunothérapie anti-CD4 ou anti-CD40L ou non (contrôle) est évaluée et présentée figure 1B.



Allogreffe (BALB/c)	-	+	+	+
Anti-CD4	-	-	+	-
Anti-CD40L	-	-	-	+

Question 1 : Schématisez ce qu'est un ELISPOT anti-IFN $\gamma$ , en indiquant les différentes étapes expérimentales (2points)

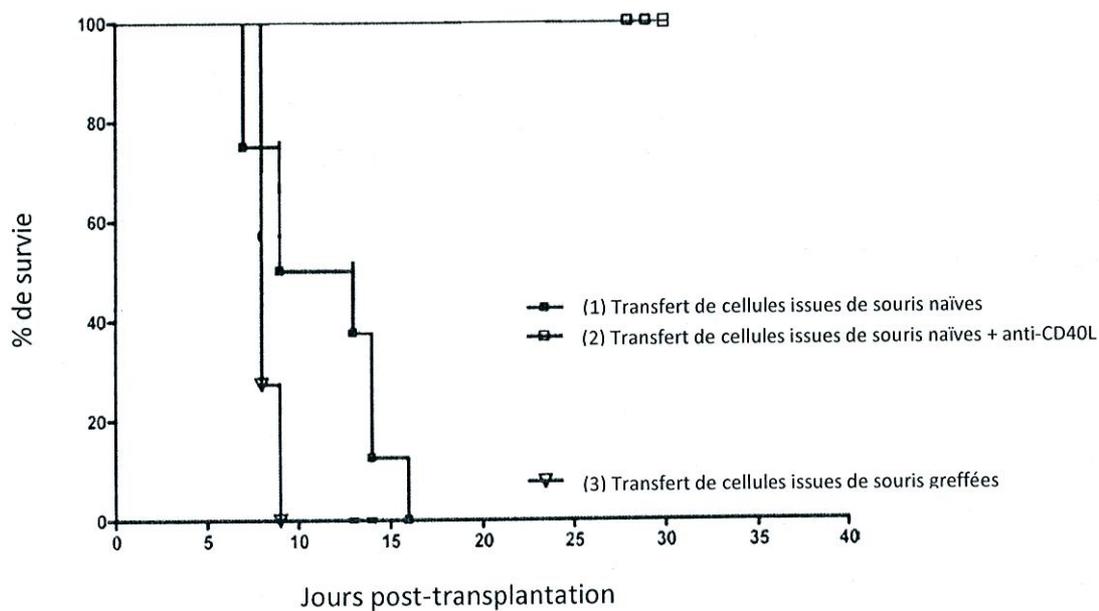
Question 2 : Analysez la figure 1A. Quel type de réponse immunitaire est mis en place lors du rejet du greffon dans les souris C57BL/6 ? Quel type de réponse immunitaire est mis en place lors d'une immunothérapie par des anticorps antagonistes de CD40L ? (2points)

Question 3 : Analysez la figure 1B. A votre avis, pourquoi observe-t-on une différence entre la survie des souris ayant reçu une immunothérapie anti-CD4 et la survie des souris ayant reçu une immunothérapie anti-CD40L ? (2 points)

**Expérience 2** : des souris SCID (souris dépourvues de cellules T et B) sont greffées avec un cœur de souris BALB/c. Parallèlement, des souris C57BL/6 ont également été greffées ou non (souris naïves) 6 jours plus tôt avec un cœur provenant de souris BALB/c.

Le lendemain de leur transplantation les **souris SCID** greffées subissent un transfert adoptif de cellules de rate provenant des souris C57BL/6 naïves (condition 1 et 2 de la figure 2) ou greffées 6 jours plus tôt (conditions 3 et 4). Les souris SCID transplantées et ayant subi le transfert adoptif sont ensuite traitées avec un anti-CD40L antagoniste (conditions 2 et 3) ou non (conditions 1 et 4). La survie des souris en jours post-transplantation est présentée figure 2 :

Figure 2



Question 4 : analysez la figure 2. Pourquoi dans la condition (1) les souris meurent-elles toutes au 16<sup>ème</sup> jour ? Pourquoi observe-t-on une différence de survie chez les souris ayant subi, un transfert adoptif de cellules de rate issues de souris C57BL/6 naïves, puis suite à ce transfert une immunothérapie anti-CD40L (condition 2) ? (3point)

Question 5 : Pourquoi a-t-on une différence de survie entre les conditions (1) et (3) ? (2points)

Question 6 : Sur la figure 2 on observe que les souris ayant subies un transfert de cellules de rate de souris C57BL/6 naïves puis une immunothérapie anti-CD40L antagoniste survivent au 30<sup>ème</sup> jour post-transplantation (condition 2). A votre avis à quoi peut-on s'attendre quant à la survie de ces souris au 60<sup>ème</sup> jour ? (2 points)

**Licence de BIOLOGIE**  
**Parcours MICROBIOLOGIE**  
**Examen de l'UE Bases en Génétique Bactérienne (BIO3002L)**

Tous les documents sont autorisés

Durée : 2 heures

**Sujet**

Afin d'étudier certaines propriétés de l'opéron lactose chez *Escherichia coli*, une série d'expériences similaires à celles réalisées lors des travaux pratiques a été entreprise. Les génotypes des souches utilisées sont précisés ci-dessous :

Génotypes des souches :

<b>1903</b>	<i>ara metB</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / F' <i>lacZ proA</i> <sup>+</sup> , <i>B</i> <sup>+</sup> ( <i>lacI</i> <sup>q</sup> ; <i>lacPL8</i> )
<b>7000</b>	F' <i>ara ilvA</i> $\Delta(gpt-lac)_5$
<b>8000</b>	<i>ara metB</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / F' <i>lac</i> <sup>+</sup> <i>proA</i> <sup>+</sup> , <i>B</i> <sup>+</sup> ( <i>lacI</i> <sup>q</sup> ; <i>lacPL8</i> )
<b>8100</b>	<i>ara metB</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / F' $\Delta lacZ$ <i>proA</i> <sup>+</sup> , <i>B</i> <sup>+</sup> ( <i>lacI</i> <sup>q</sup> ; <i>lacPL8</i> )
<b>8200</b>	<i>ara metB</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / F' $\Delta lacY$ <i>proA</i> <sup>+</sup> , <i>B</i> <sup>+</sup> ( <i>lacI</i> <sup>q</sup> ; <i>lacPL8</i> )
<b>8300</b>	F' <i>ara ilvA</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / plasmide pCClac5
<b>8400</b>	F' <i>ara ilvA</i> $\Delta(gpt-lac)_5$ / plasmide pCClac5 muté
<b>9000</b>	HfrC

NB : Les souches 8100 et 8200 sont issues de la souche parentale 8000

La position de la mutation portée par le gène *lacZ* extrachromosomique présent chez la souche 1903 correspond à celle indiquée dans le fascicule de Travaux pratiques.

Pour mémoire, la délétion  $\Delta(gpt-lac)$  provoque la perte des gènes *proA* et *proB*. Les gènes *proA*, *proB*, *metB* et *ilvA* codent des enzymes essentielles impliquées dans les voies de biosynthèse de la proline (Pro), la méthionine (Met) et l'isoleucine (Ile), respectivement. Les gènes notés *ara* et *lac* codent des protéines nécessaires aux voies de dégradation de l'arabinose (Ara) et du lactose (Lac), respectivement.

1. Avant de réaliser une série d'expériences, il est nécessaire de vérifier les phénotypes des souches qui vont servir dans l'expérimentation.

1.1. A partir des génotypes donnés, écrivez le phénotype attendu de chaque souche

1.2. Sous la forme d'un tableau, présentez les milieux de croissance nécessaires et les résultats attendus dans le cas des caractéristiques suivantes : auxotrophies, catabolisme des sucres (uniquement + et -), résistances aux antibiotiques.

1.3. Quels sont les deux gènes de l'opéron *lac* nécessaires à la capacité de dégrader le lactose ? Sous forme de tableau, indiquer les milieux/conditions de croissance à utiliser pour tester leur intégrité ou déficience ainsi que les résultats attendus pour chacune des souches données au dessus.

1.4. Afin d'étudier la régulation de l'opéron *lac* chez la souche 9000, quels milieux de croissance proposez-vous d'utiliser ? Indiquer les résultats attendus pour cette souche.

2. Des souches bactériennes mutées dans le gène *lacZ* porté par le plasmide pCCLac5 ont été recherchées selon les protocoles décrits lors des travaux pratiques de génétique bactérienne.

2.1. Quelles souches utiliseriez vous (parmi les 7 données), d'une part, pour réaliser la mutagenèse (à l'aide de NTG) et purifier un mélange de plasmides mutés, et d'autre part, comme réceptrice lors de la transformation par l'ADN « mélange de plasmides mutés » ?

2.2. Quel milieu de croissance proposez-vous pour identifier les bactéries d'*Escherichia coli* ayant reçu un plasmide portant une mutation rendant non fonctionnelle la  $\beta$ -galactosidase ?

Le tableau 1 donne les résultats obtenus sur ce milieu lors de l'expérience.

Transformation	Nombre total de colonie	Nombre de colonies B-Gal <sup>-</sup>
Avec ADN pCCLac5 2 boîtes	556	0
	564	3
Avec ADN PCCLac5 muté 5 boîtes	541	11
	478	12
	591	9
	543	10
	566	21

**Tableau 1 :** Transformants obtenus après transformation d'*E. coli* à l'aide du plasmide pCCLac5 non muté ou à l'aide du plasmide pCCLac5 muté.

2.3. Que peut-on dire du taux de mutations spontanées dans notre expérience ?

2.4. Que dire de l'action de la NTG ? préciser votre réponse en expliquant les calculs réalisés et en les justifiant.

2.5. Sachant que 5  $\mu$ l d'une préparation d'ADN PCCLac5 muté (concentration : 0,05 mg.mL<sup>-1</sup>) ont été utilisés pour la transformation et que toute la suspension cellulaire a été étalée sur les 5 boîtes du tableau 1, quel est l'efficacité de transformation obtenue (en nombre de transformants par  $\mu$ g d'ADN) avec les cellules compétentes utilisées ?

3. Les expérimentateurs ont finalement obtenu 6 colonies présentant une activité  $\beta$ -galactosidase nulle et dont les caractéristiques phénotypiques montrent qu'elles sont bien issues de la souche parentale et possèdent un plasmide pCCLac5 muté.

Toujours selon les protocoles décrits lors des travaux pratiques de génétique bactérienne, des souches d'*Escherichia coli* présentant une délétion dans la région *lac* portée par le plasmide F' ont été recherchées via un mécanisme de délétion spontanée.

3.1. Quelle(s) souche(s) bactérienne parmi les 7 disponibles peut(vent)-elle(s) être utilisée(s) comme souche(s) parentale(s) dans cette expérience ? Justifier.

3.2. Quel milieu et quelles conditions de croissances sont utilisées ? justifier.

4. A l'issue de cette expérience, 5 souches bactériennes présentant une délétion sont obtenues et utilisées dans la suite des expériences. Afin de localiser les mutations ponctuelles et les délétions, une expérience de conjugaison est réalisée entre les souches portant une délétion sur le plasmide F et les souches portant une mutation sur le gène *lacZ* du plasmide pCCLac5.

4.1. Quel est le milieu de croissance qui permet d'obtenir une croissance uniquement des bactéries recombinantes dont une  $\beta$ -galactosidase fonctionnelle est restaurée.

4.2. Quel autre milieu de croissance aurait permis d'obtenir une croissance de tous les conjuguants et d'identifier les recombinants  $\beta$ -Gal<sup>-</sup> et  $\beta$ -Gal<sup>+</sup>.

Les résultats de la conjugaison après étalement sur le milieu donné en 4.1 sont reportés dans le tableau 2. Chaque conjugaison a été réalisée par 6 groupes d'expérimentateurs.

X	$\Delta 1$			$\Delta 2$			$\Delta 3$			$\Delta 4$			$\Delta 5$			BL		
M1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	++	++	+	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-
M2	-	+	-	+	+++	+	-	+	-	+++	+++	+++	-	+	-	-	+	-
	-	-	-	+++	+	++	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
M3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+++	+++	++	+	++	-	+	+	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-
M5	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M6	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	+	-	++	-	-	+	-
	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1903	+++	+++	++	+++	++	++	-	+	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
	++	++	+++	++	+++	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
BL	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tableau 2 :** Résultats obtenus après étalement sous forme de traits des croisements liquides entre les souches délétées et les souches mutantes obtenues par mutagenèse du plasmide pCCLac5. Pour un croisement, chaque case correspond aux résultats obtenus par un groupe, 6 groupes ayant réalisé les expériences.

- absence de colonies ; + quelques colonies ; ++ nombreuses colonies ; +++ tapis cellulaire.

4.3. Présenter sous la forme d'un tableau récapitulatif les résultats du croisement (synthèse)

4.4. Les résultats obtenus pour une des souches mutantes à l'issue des croisements semblent incohérents. Quelle est cette souche ? Expliquer pourquoi cela semble incohérent avec l'ensemble des autres résultats.

4.5. Après avoir éliminer cette souche, faire un schéma présentant la localisation des mutations et l'étendue des délétions.

**Examen de TP : durée 1 heure**  
**Calculatrices non programmables autorisées**

**Question 1 :**

a/ Vous devez préparer 25 ml de glycérol à 2,5% : Quel volume de glycérol allez-vous prélever ?

b/ Vous devez préparer 250 ml d'une solution de KCl à 50 mM (MM = 74,33 g/mol) : quelle masse allez-vous peser ?

c/ Vous devez traiter des cellules MG-63 avec de colchicine à 40  $\mu$ M. La solution mère étant à 5 mM, combien allez-vous en mettre dans une boîte de 35 mm contenant 2 ml de milieu de culture?

**Question 2 :**

Dessinez et légendez une cellule observée au microscope à fluorescence avant et après traitement à la vinblastine, après marquage de la tubuline.

**Question 3 :**

Quelles sont les différentes étapes (nom, produit et rôle) nécessaires à la mise en évidence de la phagocytose de levures par des macrophages ?

**Question 4 :**

Qu'est-ce que la luminescence?

**Question 5 :**

Que contient un milieu de culture complet de cellules eucaryotes?

**Question 6 :**

En culture cellulaire, pourquoi lave-t-on les cellules au PBS1X avant d'ajouter la trypsine-EDTA ?

**Question 7 :**

Décrivez, à l'aide d'un schéma, le principe de l'immunofluorescence indirecte.

**SUJET DE COURS : A REDIGER SUR DEUX COPIES SEPARÉES (durée conseillée 1h)**

**Sujet A : cours de M. Leguellec (durée conseillée 30 minutes)**

Décrivez le plus complètement possible la voie de signalisation induite par les cytokines.

**Sujet B : cours de Mme Lethias (durée conseillée 30 minutes)**

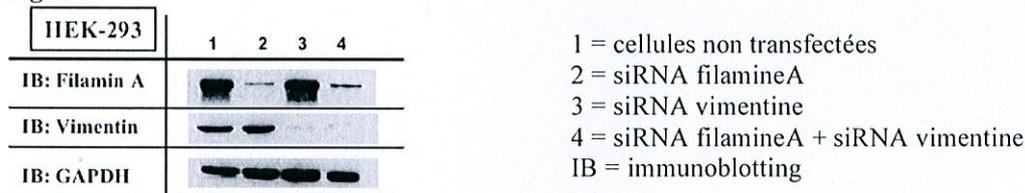
Rôle des molécules du cytosquelette dans l'architecture et les fonctions du noyau.

**SUJET DE TRAVAUX DIRIGES : A REDIGER SUR UNE COPIE (durée conseillée 1h)**

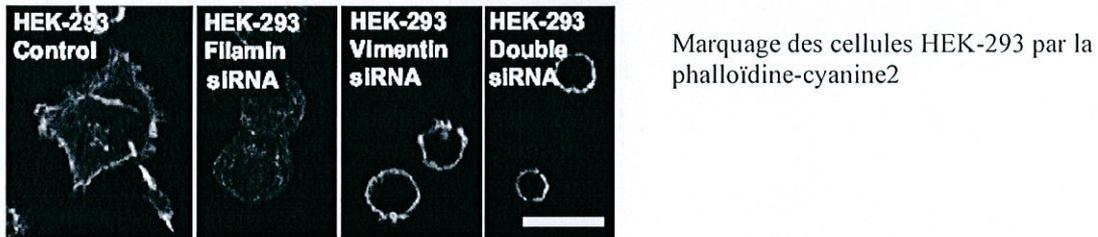
L'adhésion et l'étalement des fibroblastes sont des événements très importants dans le développement, le remodelage tissulaire et la cicatrisation. L'étalement des cellules est caractérisé par la formation d'expansions telles que les filopodes et les lamellipodes. L'actine est une protéine extrêmement importante dans ces phénomènes et il est maintenant reconnu que les filaments intermédiaires, tels que la vimentine sont également impliqués. Le travail proposé porte sur l'étude de la filamineA et son éventuelle implication dans l'étalement cellulaire.

1/ Dans un premier temps, des cellules HEK-293 ont été transfectées par un siRNA dirigé contre la vimentine, contre la filamineA ou contre les deux protéines, dans le but de créer une invalidation transitoire de ces protéines. Après 24h de culture, un western-blot (Figure 1A) et un marquage fluorescent à l'aide de la phalloïdine-cyanine2 sont réalisés (Figure 1B).

**Fig. 1A**



**Fig. 1B**



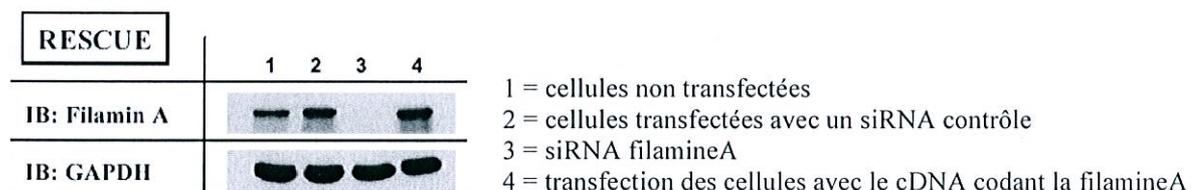
**Question 1 : Décrivez brièvement le principe du western-blot.**

**Question 2 : Décrivez et commentez les figures 1A et 1B.**

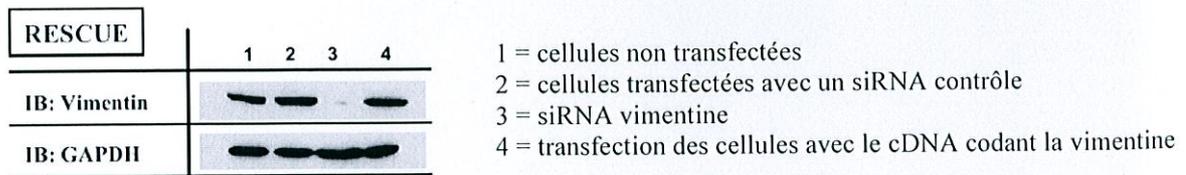
2/ Dans un second temps, les auteurs ont voulu savoir si les phénomènes observés précédemment pouvaient être modifiés par addition de la protéine suite à une transfection des cellules siRNA, par le cDNA correspondant à chaque protéine (expérience appelée rescue).

Les résultats des western-blot et du calcul du nombre d'expansions cellulaires sont présentés sur les figures 2A, 2B et 2C.

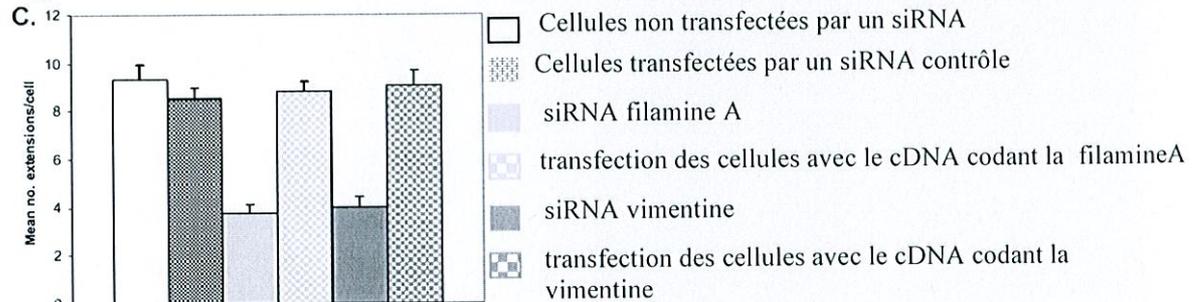
**Fig. 2A**



**Fig. 2B**



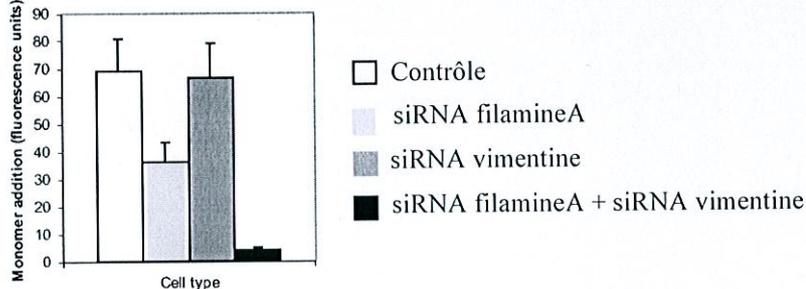
**Fig. 2C**



**Question 3 : que pouvez-vous conclure de ces expériences ?**

3/ Dans le but d'étudier l'influence de la vimentine et de la filamineA sur la polymérisation de l'actine, des mesures d'incorporation de monomères d'actine marqués à la rhodamine sur des extrémités barbées libres ont été réalisées (Figure 3).

**Fig.3**

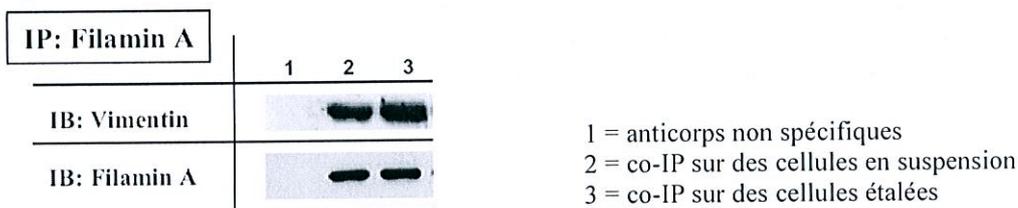


**Question 4 : Que déduisez-vous des résultats obtenus ?**

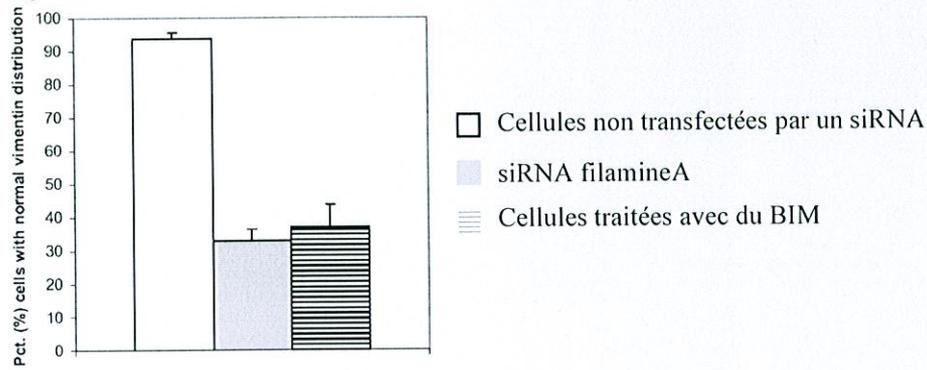
4/ Enfin, il a été montré que lors de l'étalement cellulaire, la phosphorylation de la vimentine par la protéine kinase C (PKC) est très importante. Dans le but de voir quel pourrait être l'implication de la filamineA dans ce processus, différentes expériences ont été réalisées :

- Co-immunoprécipitation avec des billes couplées à un anticorps anti-filamineA et western-blot avec des anticorps anti-vimentine (Figure 4A).
- Mesure du pourcentage de cellules ayant une distribution normale de vimentine sur des cellules contrôles, des cellules siRNA filamineA ou sur des cellules traitées avec du BIM (qui est un inhibiteur de la PKC) (Figure 4B).
- Co-immunoprécipitation avec des billes couplées à un anticorps anti-filamineA et western-blot avec des anticorps anti-phospho-vimentine, anti-PKC, anti-phospho-PKC et anti-filamineA (Figure 4C).
- Western-blot de la phospho-vimentine (avec des anticorps spécifiques des sérines 6, 38 et 50) sur des cellules contrôle, des cellules siRNA filamineA ou des cellules siRNA filamineA traitées par la bryostatine qui est un activateur de PKC (Figure 4D).

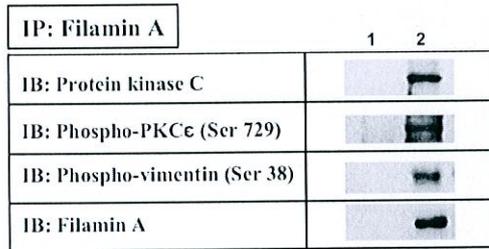
**Fig.4A**



**Fig.4B**

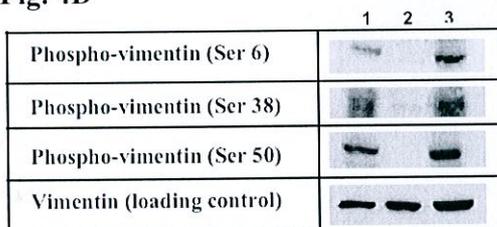


**Fig.4C**



1 = co-IP avec des anticorps non spécifiques  
 2 = co-IP avec des anticorps anti-filamineA

**Fig. 4D**



1 : cellules contrôle  
 2 : cellules siRNA filamineA  
 3 : cellules siRNA filamineA + bryostatine

**Question 5 : Décrivez brièvement le principe de la co-immunoprécipitation.**

**Question 6 : que déduisez-vous des résultats obtenus?**

**Question 7 : Résumez en deux phrases l'ensemble des résultats obtenus.**

**Examen de TP : durée 45 minutes**  
**Calculatrices non programmables autorisées**

**Question 1 :**

Vous devez préparer 1 litre de PBS 10X. Pour cela vous devez peser 80g de NaCl (MM = 58,44 g/mol), 2g de KCl (MM = 74,33 g/mol), 2,34g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (MM = 136,1 g/mol) et 29g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (MM = 358,14). Quelle est la molarité de chacun des composés dans du PBS 1X ?

**Question 2 :**

Qu'est-ce que la phalloïdine, pourquoi est-elle employée en TP ?

**Question 3 :**

Dans le cadre d'une expérience visant à mettre en évidence la tubuline par immunofluorescence, décrivez les différentes étapes (nom, produit et rôle) nécessaires à l'ensemencement de cellules MG-63 dans une boîte 35 mm.

**Question 4 :**

Lors des travaux pratiques, vous avez réalisé un marquage immunohistochimique de la protéine  $\alpha$ -SMA sur des coupes paraffine d'intestin de rat.

Avez-vous, lors de cette expérience, réalisé des témoins ?

Si oui, lesquels ?

Si non, lesquels auriez-vous pu effectuer ?

Dans cette expérience, à quoi servent les produits suivants :

Méthylcyclohexane - mélange trypsine/ $\text{CaCl}_2$  -  $\text{H}_2\text{O}_2$

**Examen de TP : durée 45 minutes**  
**Calculatrices non programmables autorisées**

**Question 1 :**

Vous devez préparer 1 litre de PBS 10X. Pour cela vous devez peser 80g de NaCl (MM = 58,44 g/mol), 2g de KCl (MM = 74,33 g/mol), 2,34g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (MM = 136,1 g/mol) et 29g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (MM = 358,14). Quelle est la molarité de chacun des composés dans du PBS 1X ?

**Question 2 :**

Qu'est-ce que la phalloïdine, pourquoi est-elle employée en TP ?

**Question 3 :**

Dans le cadre d'une expérience visant à mettre en évidence la tubuline par immunofluorescence, décrivez les différentes étapes (nom, produit et rôle) nécessaires à l'ensemencement de cellules MG-63 dans une boîte 35 mm.

**Question 4 :**

Lors des travaux pratiques, vous avez réalisé un marquage immunohistochimique de la protéine  $\alpha$ -SMA sur des coupes paraffine d'intestin de rat.

Avez-vous, lors de cette expérience, réalisé des témoins ?

Si oui, lesquels ?

Si non, lesquels auriez-vous pu effectuer ?

Dans cette expérience, à quoi servent les produits suivants :

Méthylcyclohexane - mélange trypsine/ $\text{CaCl}_2$  -  $\text{H}_2\text{O}_2$

**SUJET DE COURS : A REDIGER SUR DEUX COPIES SEPARÉES (durée conseillée 45 min)**

**Sujet A : cours de M. Le Guellec**

Expliquez le plus complètement possible la structure et le fonctionnement des RCPG.

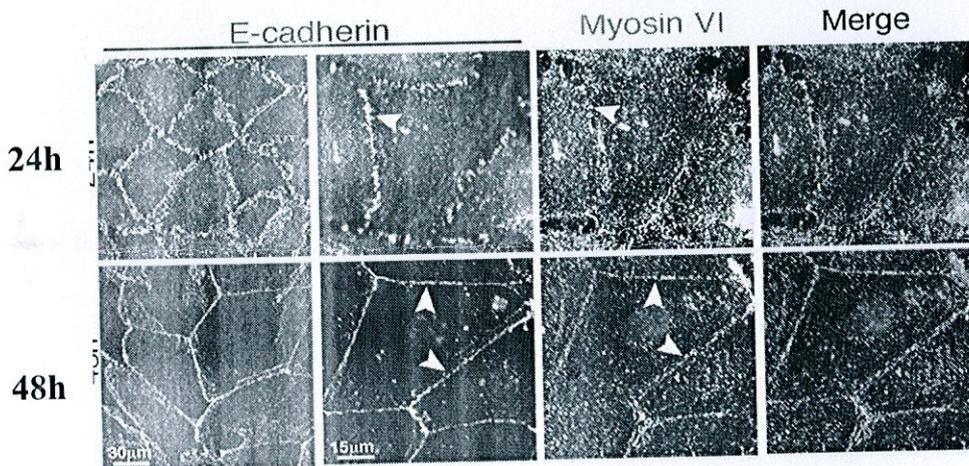
**Sujet B : cours de Mme Lethias**

Structure et fonctions de la myosine II CYTOPLASMIQUE.

**SUJET DE TRAVAUX DIRIGES : A REDIGER SUR UNE COPIE (durée conseillée 45 min)**

Lors de la mise en culture de cellules épithéliales, la mise en place des contacts cellule-cellule est très importante. La maturation de ces contacts est accompagnée de l'apparition de jonctions spécialisées au pôle apical qui conduit à la constitution de la polarité baso-apicale des cellules. Il a été montré que la cadhérine-E est fortement impliquée dans les mécanismes d'adhésion cellulaire. Le but des expériences ci-dessous est de déterminer l'implication de la myosine-VI dans les contacts cellule-cellule.

1/ Des cellules épithéliales MCF7 sont mises en culture durant 24 h ou 48h puis la myosine-VI et la cadhérine-E sont révélées par immunofluorescence à l'aide d'anticorps spécifiques. Les cellules sont finalement observées en microscopie à épifluorescence (Figure 1).

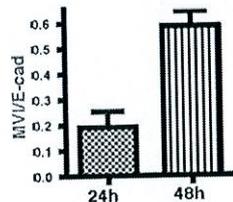


**Figure 1**

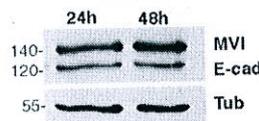
Que peut-on déduire de ces images ?

2/ Le ratio entre les deux protéines (myosine-VI/cadhérine-E) au niveau des contacts cellule-cellule a été mesuré par fluorescence (Figure 2) et la quantité totale des deux protéines a été vérifiée par western-blot (Figure 3) : qu'apportent ces figures comme informations complémentaires ?

**Figure 2**



**Figure 3**



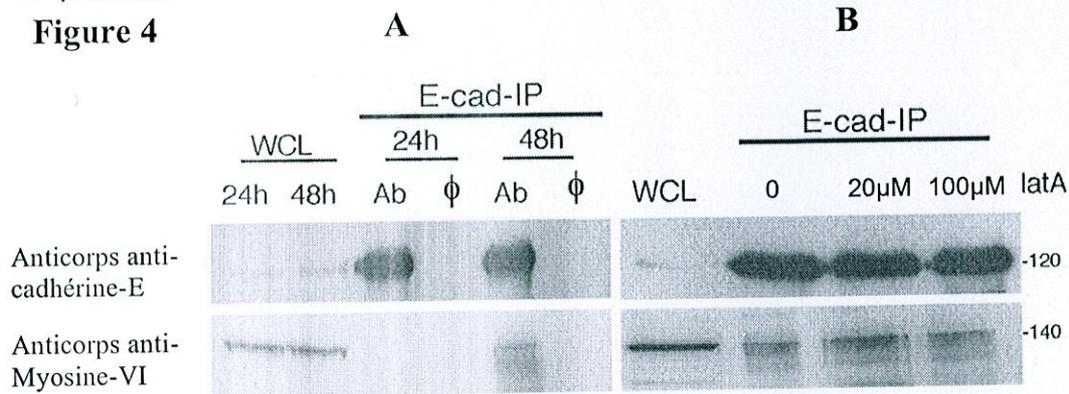
3/ Des expériences de co-immunoprécipitations ont été réalisées à partir de lysats de cellules MCF7 après 24 ou 48h de culture. Pour cela, des anticorps anti-cadhérine-E ont été couplés à des billes de sépharose et le western-blot a été révélé à l'aide d'anticorps anti-myosine-VI, ou anti-cadhérine-E

(Figure 4A). La même expérience a été réalisée à 48h de culture, en absence ou en présence de latrunculine A (LatA) (Figure 4B).

WCL = lysat cellulaire total.

Φ = contrôle.

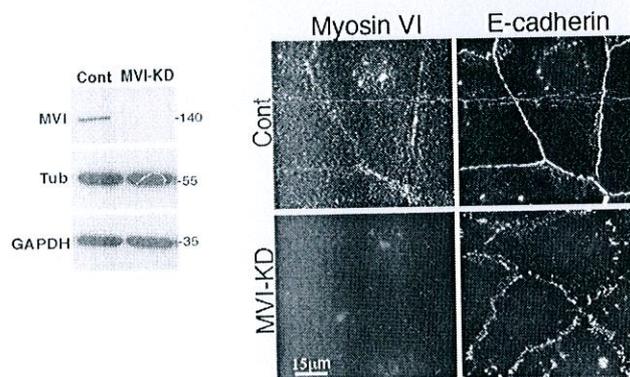
**Figure 4**



- Comment réalise-t'on le contrôle Φ?
- Que peut-on déduire de la figure 4A ?
- Que peut-on déduire de la figure 4B sachant que la latrunculine A a le même effet que la latrunculine B ?

4/ Les cellules MCF7 sont transfectées par un siRNA dirigé contre la myosine VI qui permet l'invalidation transitoire de la protéine. Après 6 jours de culture, un western-blot et une immunofluorescence sont réalisés (Figure 5).

**Figure 5**



Cont = cellules non traitées avec le siRNA.

MVI-KD = cellules traitées avec le siRNA.

Que permettent de confirmer ces expériences ?

Que déduisez-vous de l'ensemble de ces résultats sur le rôle de la myosine VI dans l'établissement des jonctions cellulaires ?

**Sujet de Cours de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**

Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées

**Question:**

En vous appuyant sur l'exemple de la migration des leucocytes à travers la barrière endothéliale lors d'un processus inflammatoire, décrivez la structure et la mode d'action des molécules d'adhérence.

**Sujet de Travaux Dirigés de Biologie Cellulaire (à rédiger sur une copie séparée)**

Durée 45 minutes – Calculatrices non autorisées

L'étude décrite ci-dessous a été réalisée par l'équipe de Günter BLOBEL (Prix Nobel de Médecine et Physiologie 1999), et a permis d'identifier les mécanismes de cette translocation des protéines à travers la membrane du réticulum endoplasmique rugueux.

**Expérience n°1:**

Dans cette expérience, on a utilisé des ARNm codant une chaîne légère d'immunoglobuline (Ig). Ces ARNm ont été extraits de cellules provenant d'un myélome qui ne sécrète que cette chaîne légère d'Ig. La masse moléculaire (MM) de cette chaîne légère est de 21 kDa.

On a préparé 5 tubes contenant un système de traduction *in vitro* auquel on a ajouté de la méthionine marquée par le  $^{35}\text{S}$ . Des microsomes, isolés à partir du réticulum endoplasmique rugueux de cellules pancréatiques et préalablement traités par de la ribonucléase, ont été ajoutés à trois de ces tubes (tubes n°A2, A4 et A5). Les tubes n°A1 et A3 ne contiennent pas de microsome. Au temps  $t_0$ , les ARNm codant la chaîne légère d'Ig ont été ajoutés dans tous les tubes qui ont ensuite été placés pendant 120 min. à 37°C.

Au bout des 120 min. les contenus des tubes n°A3 et A4 ont été traités par un mélange d'enzymes protéolytiques (trypsine + chymotrypsine) qui hydrolysent les protéines en peptides de faibles masses moléculaires. Le milieu réactionnel du tube n°A5 a d'abord été traité par un détergent avant d'être mis en présence du mélange d'enzymes.

Les protéines contenues dans les différents tubes ont alors été précipitées par l'acide trichloracétique (TCA) puis analysées par SDS-PAGE. Après migration, les gels ont été séchés, mis au contact d'un film d'émulsion photographique et placés au froid pendant le temps d'exposition nécessaire.

**Résultats:**

Les résultats obtenus après révélation des autoradiographies sont les suivants :

N° des tubes	A1	A2	A3	A4	A5
MM des protéines marquées (kDa)	25	21	0	21	0

Lorsque l'expérience du tube n°A4 a été répétée mais en ajoutant cette fois les microsomes à la fin de la phase de traduction des ARNm, on obtient un résultat identique à celui du tube n°A3.

**Questions:**

1. D'après vos connaissances, quelles protéines doivent être synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique rugueux ?
2. Qu'est ce qu'un microsome ? Comment ont-ils été obtenus ?
3. Sachant qu'à la concentration utilisée, la ribonucléase ne modifie ni la structure ni l'activité des ribosomes, dites quel type de molécule a été hydrolysé lors du traitement préalable des microsomes par la ribonucléase ? Pourquoi ce traitement a-t-il été effectué ?
4. Que doit contenir un système de traduction *in vitro* pour assurer la synthèse de protéines ?
5. Pourquoi les protéines ont-elles été détectées par autoradiographie plutôt que par coloration au bleu de Coomassie ?

6. Comparez et interprétez les résultats obtenus. Vos réponses doivent être justifiées. Vous pouvez vous aider d'un schéma.

**Expérience n°2:**

Des microsomes traités par la ribonucléase ont été placés dans un tampon pH 7,4 additionné de KCl 0,5 M puis centrifugés à 100.000 g pendant une heure à 4°C. Le culot (= fraction c-KCl) et le surnageant (= fraction s-KCl) ont été dialysés séparément contre un grand volume de NaCl 0,15 M afin d'éliminer le KCl.

Les deux fractions microsomales ainsi obtenues ont alors été utilisées seules ou combinées dans des systèmes de traduction *in vitro* semblables à ceux décrits dans l'expérience n°1, en présence d'ARNm codant la chaîne légère des Ig. Dans certains cas (tubes n°B4 et B5), l'une des deux fractions utilisées (c-KCl ou s-KCl) a préalablement été soumise à l'action de la trypsine. Dans certaines expériences, les microsomes de réticulum endoplasmique rugueux (RER) ont été remplacés par ceux provenant de réticulum endoplasmique lisse (REL) (tubes n°B6 et B7).

Après 120 min. de traduction, une fraction des échantillons a été analysée directement par SDS-PAGE, une autre fraction a été traitée par la trypsine avant leur analyse par SDS-PAGE.

**Résultats:**

Les différentes conditions d'expérience et les résultats correspondants sont indiqués dans le tableau suivant :

n° des tubes	nature des microsomes ou des fractions microsomales ajoutées au système de traduction <i>in vitro</i>	Produits de traduction	
		MM (kDa)	sensibilité à la protéase
B1	microsomes complets issus de RER	21	-
B2	fraction c-KCl	25	+
B3	fractions c-KCl + s-KCl	21	-
B4	c-KCl + (s-KCl traitée par la trypsine)	25	+
B5	(c-KCl traitée par la trypsine) + s-KCl	25	+
B6	microsomes complets issus de REL	25	+
B7	microsomes issus de REL + s-KCl	25	+

**Questions:**

7. Quel est l'effet du traitement par le KCl 0,5M sur la structure des microsomes ? A quoi correspondent les fractions microsomales c-KCl et s-KCl ?
8. Interprétez les résultats obtenus à partir des tubes n° B1, B2 et B3 ? Vos réponses doivent être justifiées.
9. Quelles sont les informations fournies par les résultats des tubes n° B4 et B5 ? Vos réponses doivent être justifiées.
10. Interprétez les résultats obtenus à partir des tubes n° B6 et B7 ? Vos réponses doivent être justifiées.

## Examen de TD/TP Durée 1 heure

La levure *C. albicans* est un pathogène opportuniste de l'homme. En contact avec du sérum humain, sa croissance normalement levuriforme devient mycélienne. En parallèle, l'expression du génome est modifiée, et de nouvelles protéines sont synthétisées. Parmi ces protéines, plusieurs protéases alcalines sont répertoriées dont certaines sont sécrétées.

1. La levure a été cultivée pendant 48h en absence de sérum humain, puis elle a été transférée dans un milieu à base de ce sérum. Un échantillon du surnageant de culture a été prélevé régulièrement au cours du temps, et l'activité protéase totale a été mesurée par dosage enzymatique en utilisant un tampon de réaction à pH4 (Fig. 1 pointillés) ou un tampon à pH8 (Fig. 1 trait plein). Analysez les résultats et interprétez.
2. La levure a ensuite été cultivée pendant 48h en milieu riche, puis elle a été transférée dans un milieu de composition nutritive variée (Fig. 2). Après 8h de transfert, l'activité des protéases présentes dans le surnageant de culture a été mesurée à pH 8 en présence ou absence de certains inhibiteurs de protéases. Analysez et interprétez les résultats.
3. Sur la base de vos interprétations, proposez un schéma de régulation de la production de protéases.

Fig.1

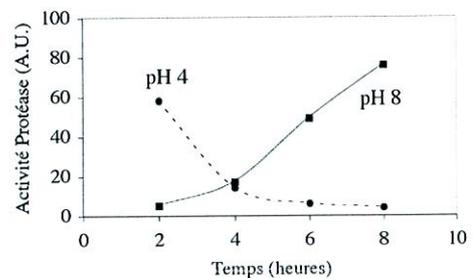
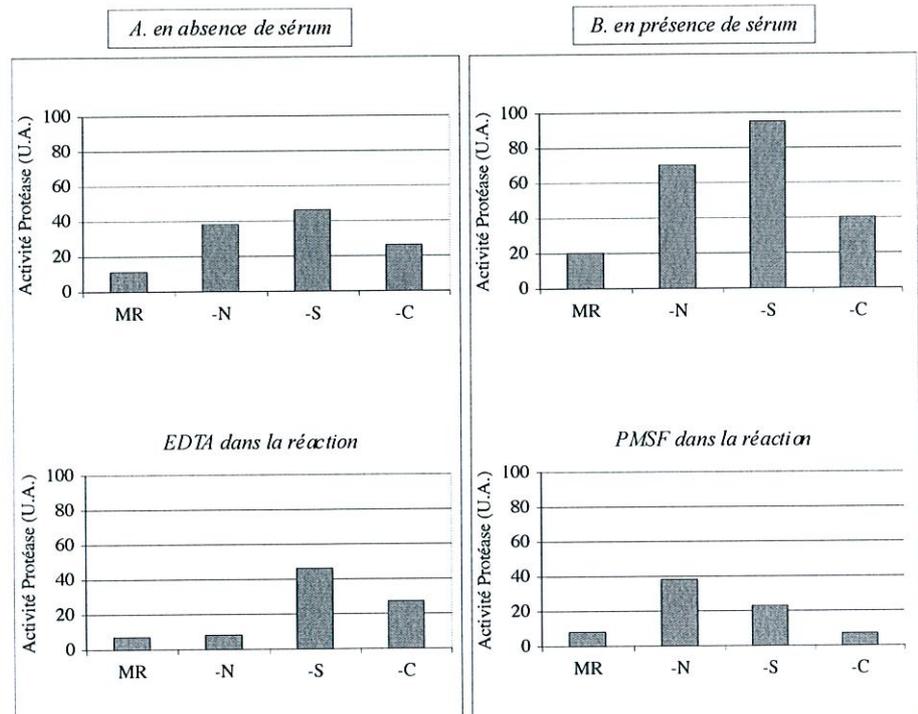


Fig.2 : Mesures de l'activité protéase des surnageants de culture

Les levures ont été transférées dans 4 milieux différents : milieu riche (MR), milieu carencé en azote (-N), carencé en soufre (-S) ou carencé en carbone (-C). Du sérum a été (A) ou non (B) ajouté à ces milieux.

EDTA, inhibiteur des métallo-protéases, PMSF, inhibiteur des sérine-protéases.



**U.E. de Biologie Cellulaire Microbienne**Année 2010 – 1<sup>ère</sup> session**Sujet d'Examen de Cours**  
**Durée 2 heures**

Chez les microbes eucaryotes, la vacuole est un organel essentiel délimité par une seule membrane et qui intervient dans de nombreux processus cellulaires. Sa dynamique au sein de la cellule se caractérise notamment par des phénomènes de fusions et de fissions.

Après avoir introduit cet organel et la place des événements de fusion et fission dans certains de ses rôles cellulaires, présentez votre vision de cette dynamique vacuolaire. Il s'agira de proposer, en le justifiant, un ensemble d'éléments moléculaires que vous pensez nécessaires à cette dynamique et de préciser les d'étapes permettant d'après vous de décrire les deux processus.

L'écriture d'un document soigné et structuré est attendue.

Numéro d'anonymat :

LICENCE DE BIOLOGIE Parcours Microbiologie  
Ecologie Microbienne  
Semestre de printemps 2010 - Examen écrit (1 heure 30)

Aucun document n'est autorisé

- 1) En vous basant sur deux exemples vus en cours, illustrez le rôle écologique des protozoaires (6 points)
- 2) Vous êtes amené à conseiller une personne qui cherche une méthode lui permettant de suivre l'évolution quantitative d'une population de *Rhizobium* (dont une culture pure est disponible) pendant une année dans un sol non planté. Quelle méthode (en présentant les avantages et les inconvénients) lui conseillez-vous ? (8 points)
- 3) Définissez les termes suivants en trois lignes maximum (6 points). Répondre directement sur cette feuille dans le cadre prévu à cet effet

Communauté microbienne :

Parasitisme :

Symbiote :

Capacité biotique :

**Université Claude Bernard - Lyon I**  
**L3 BGSTU**

**Module « Endocrinologie et Neuroanatomie Fonctionnelle »**

**EXAMEN ECRIT** (durée 1h)

**2<sup>ème</sup> Session – Janvier 2010**

**Les deux sujets sont à traiter obligatoirement et sur deux copies distinctes**

**Sujet 1** : (C. Romestaing ; durée conseillée : 30 min)

Décrire les mécanismes impliqués dans l'insulino-sécrétion après ingestion de glucose (aidez-vous de schémas)

**Sujet 2** : (K. Julliard ; durée conseillée : 30 min)

Comparer (et non énumérer) les rôles des neurones et des astrocytes dans le système nerveux central.

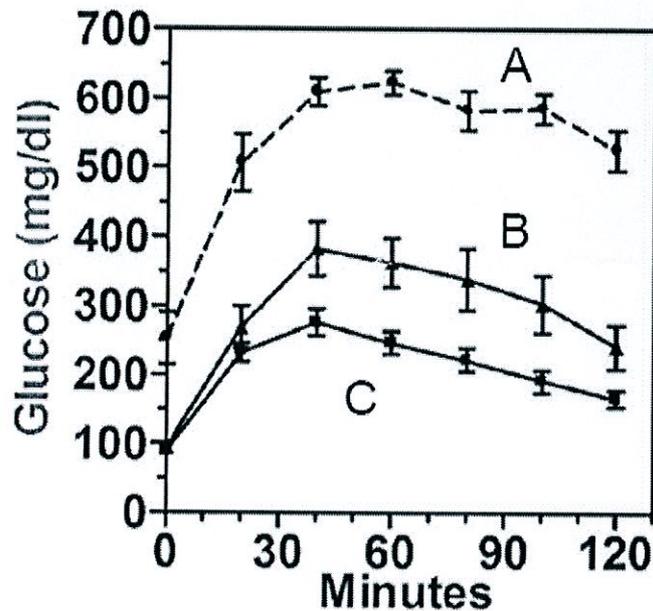
Université Claude Bernard – Lyon1

L3 BGSTU

Module « Endocrinologie et Neuroanatomie fonctionnelle »

Examen TP/TD

Session 2 Janvier 2010 (durée 45min)

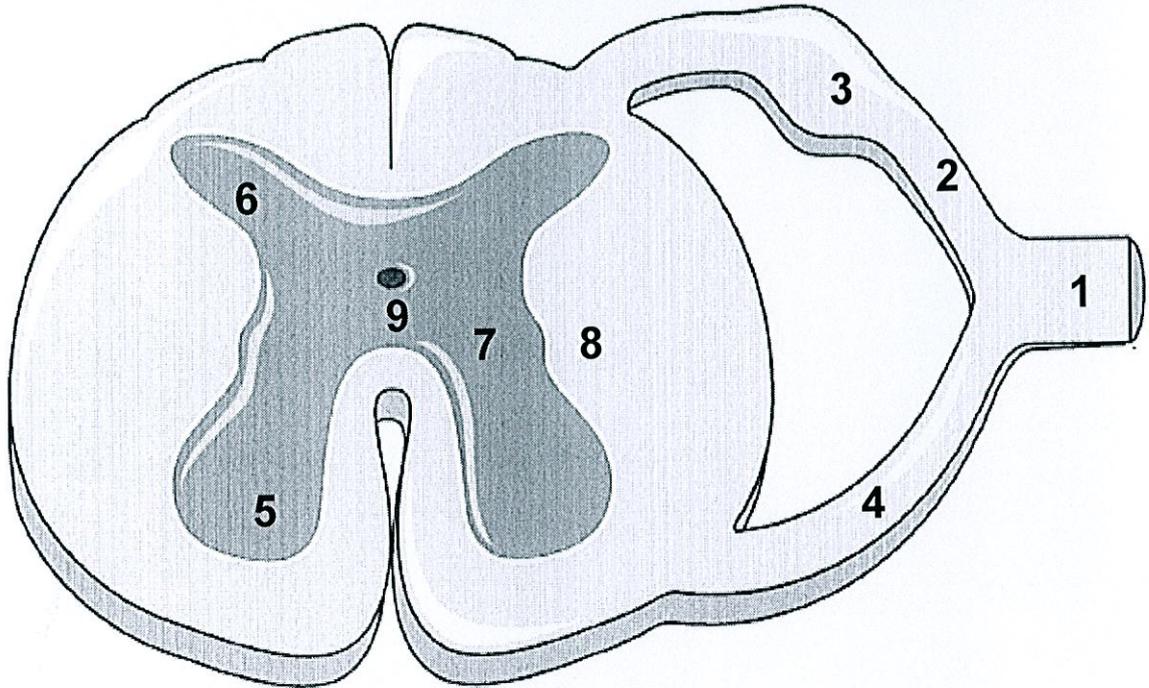
Les deux sujets sont à traiter obligatoirement et sur deux copies distinctesSujet 1: endocrinologie (H. Mertami; durée conseillée 20min)

Les trois graphes A, B, C, représentent les résultats des test de tolérance au glucose effectués chez des rats à jeun pendant 24 h. Au temps  $t_0$ , une injection intrapéritonéale de glucose (3mg/g) a été réalisée puis la glycémie a été mesurée à différents temps après l'injection. Analysez les courbes correspondant aux graphes A et C et interprétez de façon précise les variations observées.

**Sujet 2: Neuroanatomie (P. Aimé; durée conseillée 25min)**

Attention, document à joindre à votre copie d'examen N° de copie:

Question 1 : Légendez et donnez un titre à la figure suivante :



- 1)
- 2)
- 3)
- 4)
- 5)
- 6)
- 7)
- 8)
- 9)

10) TITRE DE LA FIGURE :

Question 2 : Nommez et décrivez le mécanisme d'action d'une stratégie thérapeutique de votre choix, utilisée actuellement dans le traitement de la maladie de Parkinson

## **EVOLUTION DES VEGETAUX UE BIO3016L**

Epreuve de Cours Magistral du mercredi 09 juin 2010 de 8h00 à 9h30  
Amphithéâtre 6

Le Dévonien est une étape clé dans la diversification des flores terrestres et dans l'acquisition de nombreux caractères phénotypiques innovants permettant la conquête nouveaux milieux.  
Quels sont les représentants majeurs de cette flore dévonienne ?  
Quelles sont les innovations majeures des végétaux du Dévonien ?  
Pouvez-vous proposer des hypothèses quant à la mise en place de ces innovations, quelles en sont les moteurs ?

**EVOLUTION DES VEGETAUX**  
**UE BIO3016L**

Epreuve de Cours Magistral du mercredi 30 juin 2010 de 8h00 à 9h00  
Amphithéâtre Gouy

A l'aide des différentes classes de Ptéridophytes étudiées en cours et en travaux pratiques et de vos connaissances paléobotaniques, illustrez l'évolution de la stèle.

Mettez en rapport l'évolution de la stèle avec l'architecture du végétal.

Examen de 2<sup>ème</sup> session Juin 2010 – Génétique 3

Sujet I : (Durée 45 minutes) *Calculatrices autorisées*

L'hypotrichose simplex héréditaire (HSS) est une maladie génétique caractérisée par une perte des cheveux et une réduction de la taille des follicules pileux. L'arbre généalogique d'une famille pakistanaise présentant ce phénotype est décrit dans la figure 1.

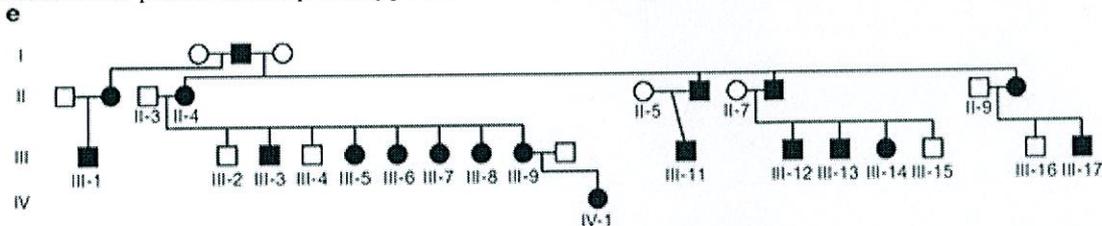


Figure 1 : Arbre généalogique de la famille HSS pakistanaise (Shinomura et al., Nature, 15 April 2010)

- a. Au vu de cet arbre généalogique, quel est le mode de transmission du syndrome HSS ? Justifiez votre réponse.

Une analyse de liaison génétique est effectuée dans cette famille en utilisant 10000 marqueurs SNPs couvrant la totalité du génome.

- b. Quel est le principe et l'objectif d'une telle étude de liaison ?  
 c. Quels sont les avantages et inconvénients des marqueurs SNPs ?

Cette analyse permet d'identifier un locus candidat sur le chromosome 18 (18p11.22). Le génotypage d'autres marqueurs dans cette région donne les résultats suivants pour quelques individus de la famille :

marqueur	Individus de la famille									
	II-3	II-4	III-2	III-3	III-4	III-5	III-6	III-7	III-8	III-9
D18S967	3 3	3 2	3 3	3 2	3 3	3 2	3 2	3 2	3 3	3 2
D18S1163	3 1	3 4	1 3	3 4	3 3	1 4	1 4	1 4	3 3	3 4
D18S843	3 2	3 4	2 3	3 4	3 3	2 4	2 4	2 4	3 3	3 4
RAB31	3 5	4 3	5 4	3 3	3 4	5 3	5 3	5 3	3 3	3 3
D18S1153	2 4	6 2	4 6	2 2	2 6	4 2	4 2	4 2	2 2	2 2
D18S1158	1 3	1 3	3 1	1 3	1 1	3 3	3 3	3 3	1 3	1 3
D18S1116	4 2	3 3	2 3	4 3	4 3	2 3	2 3	2 3	4 3	4 3
GNAL-MS	2 3	3 1	3 3	2 1	2 1	3 1	3 1	3 1	2 1	2 1
D18S71	4 4	8 3	4 8	4 3	4 3	4 3	4 3	4 3	4 3	4 3
D18S453	2 6	4 5	6 4	2 5	2 5	6 5	6 5	6 5	2 5	2 5

Figure 2 : Génotype des individus de la famille pour des marqueurs de la région candidate. Pour chaque individu, les allèles des deux chromosomes sont représentés en colonne

- d. Quel est l'haplotype porteur de la mutation ?  
 e. Peut-on définir un intervalle au sein de cette série de marqueurs (D18S967 est le plus centromérique, D18S453 le plus télomérique) pour rechercher le gène responsable de l'HSS ? Justifiez votre réponse.  
 f. Calculez le Lodscore en bi-point entre le marqueur D18S1153 et le gène responsable de l'HSS, dans la famille dont les génotypes sont donnés figure 2 (parents II-3 et II-4 ; enfants III-2 à III-9) pour une valeur de  $\theta = 0$ . Interprétez ce résultat.

## UE Génétique 3

Partie procaryotes - 2<sup>ème</sup> session

Durée 45 mn

---

Sujet en 3 parties, les différentes parties peuvent être traitées indépendamment.

I - Construction d'une souche par cotransduction

II - Utilisation d'une fusion pour suivre l'expression d'un gène

III - Utilisation d'une collection de souches Hfr Tn10 pour la localisation d'une fusion

---

Une souche d'*Escherichia coli*, nommée A, portant une fusion chromosomique transcriptionnelle *psr-lacZ* (*psr* pour « phosphate repressible ») a été identifiée. Son génotype est le suivant :

Souche	Génotype
A	F <sup>-</sup> $\Delta lac$ <i>proC::Tn5</i> $\phi(psr-lacZ)op$

*Δlac* : Délétion de l'opéron lactose (localisé à la minute 7 du chromosome)

*proC::Tn5* : insertion du transposon Tn5 conférant la résistance à la kanamycine dans le gène *proC* (localisé à la minute 8,7 du chromosome bactérien). L'inactivation du gène *proC* génère une auxotrophie vis-à-vis de la proline.

La position de la fusion  $\phi(psr-lacZ)op$  est inconnue.

Les auteurs veulent dans un premier temps savoir si le contrôle de l'expression du gène *psr* implique l'activateur de transcription PhoB, qui forme avec le capteur PhoR le système à 2 composants PhoR/PhoB capable d'induire certains gènes en réponse à une carence en phosphate.

I - Pour cela ils ont introduit par cotransduction la délétion  $\Delta phoB$  (localisé à la minute 9 du chromosome bactérien) dans la souche A et ont ainsi obtenu la souche B.

Remarque : la délétion  $\Delta phoB$  ne peut pas être directement sélectionnée mais conduit à l'absence de synthèse de phosphatase alcaline qui peut être facilement identifiée après croissance sur boîte par un test coloré.

I.1 – Quel est le vecteur de la transduction généralisée chez *E. coli* ?

I.2 – Indiquer la souche, parmi les 4 souches C, D, E et F, qui a permis de réaliser la cotransduction de la délétion  $\Delta phoB$  dans la souche A.

Souche	Génotype
C	F <sup>-</sup> $\Delta lac$ <i>proC45</i> $\Delta phoB$ <i>recA</i>
D	F <sup>-</sup> $\Delta lac$ <i>proC::Tn5</i> $\Delta phoB$
E	F <sup>-</sup> $\Delta lac$ $\Delta phoB$ <i>recA</i>
F	Hfr $\Delta lac$ <i>rpsL</i> $\Delta phoB$

*Δlac* : Délétion de l'opéron lactose (localisé à la minute 7 du chromosome)

*proC::Tn5* : insertion du transposon Tn5 conférant la résistance à la kanamycine dans le gène *proC* (localisé à la minute 8,7 du chromosome bactérien). L'inactivation du gène *proC* génère une auxotrophie vis-à-vis de la proline.

*rpsL* : gène localisé à la minute 74,8 du chromosome bactérien qui code pour la protéine S12 du ribosome, cible de la streptomycine. Une mutation dans ce gène confère donc la résistance à la streptomycine.

*recA* : gène localisé à la minute 60,8 du chromosome bactérien qui code pour la protéine RecA nécessaire à la recombinaison homologue.

I.3 Préciser les étapes nécessaires à cette construction et le génotype de la souche B ainsi obtenue.

II – Les Activités  $\beta$ -galactosidase des souches A ( $\phi(psr-lacZ)op$ ), B ( $\phi(psr-lacZ)op \Delta phoB$ ), et B transformée par un plasmide porteur du gène *phoB* sauvage (B / *pphoB+*), ont été déterminées après croissance dans un milieu carencé ou non en phosphate. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1.

	Activité $\beta$ -galactosidase en Unité de Miller	
	Milieu riche carencé en phosphate (TBLG)	Milieu riche à forte concentration en phosphate (GL)
Souches :		
A	100	0,1
B	0,1	0,1
B / <i>pphoB+</i>	400	0,5

Tableau 1 : Activité  $\beta$ -galactosidase de la fusion  $\phi(psr-lacZ)op$  en (Unité de Miller) après croissance des souches sur milieu carencé ou non en phosphate

II.1 - Que pouvez-vous conclure à partir des activités  $\beta$ -galactosidase des souches A, B et B / *pphoB+* quant au rôle éventuel de PhoB dans le contrôle de l'expression du gène *psr* ?

II. 2 – Proposez une explication permettant d'expliquer le fort niveau d'expression de la fusion dans la souche B / *pphoB+* dans un milieu carencé en phosphate.

III - Dans le but de localiser la fusion  $\phi(psr-lacZ)op$  sur le chromosome bactérien par conjugaison, différentes souches Hfr ont été utilisées. Ces souches Hfr diffèrent par le site d'insertion du facteur F, comportent chacune une insertion du transposon Tn10 (conférant la résistance à la tétracycline) localisée en position proximale à 5 ou 10 minutes environ en amont du site d'insertion du facteur F et sont délétées pour l'opéron lactose (figure 1).

Des croisements d'une durée de 60 mn sont réalisés entre les 8 souches Hfr et la souche A ( $F^- \Delta lac proC ::Tn5 \phi(psr-lacZ)op$ ).

III.1 – Donnez la définition des souches Hfr et rappelez pourquoi elles sont plus adaptées pour le transfert de marqueurs chromosomiques que les souches  $F^+$  ?

III.2 – Décrivez brièvement les 4 étapes de la conjugaison bactérienne chez les bactéries à Gram négatif.

Les résultats des dénombrements des colonies bleues et des colonies blanches obtenues sur ce milieu sont regroupés dans le tableau 2.

III.3 - Que peut-on conclure quant à la localisation de la fusion *psr-lacZ* ? Justifiez toutes vos réponses.

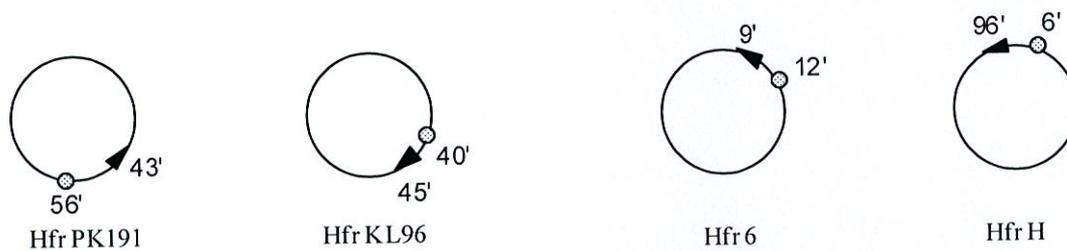


Figure 1 - Carte génétique des souches Hfr

Souche Hfr	Nombre de	Nombre de
	recombinants Tet <sup>R</sup> et Bleus	recombinants Tet <sup>R</sup> et Blancs
Hfr PK191 <i>zfg::Tn10</i>	542	15
Hfr KL96 <i>Eda::Tn10</i>	490	28
Hfr 6 <i>zbc::Tn10</i>	324	0
Hfr H <i>proA::Tn10</i>	452	110

Tableau 2 - Dénombrement des recombinants

Sujet proposé par H. Pinon  
 à traiter sur une copie séparée ; durée 1h

répondre de façon précise,  
 justifier vos réponses sans longueur inutile

**Q1** En cinq lignes au maximum, lister les systèmes de recombinaison spécialisée que vous connaissez et leurs composants

**Brainbow** : des indicateurs pour faire quoi ?

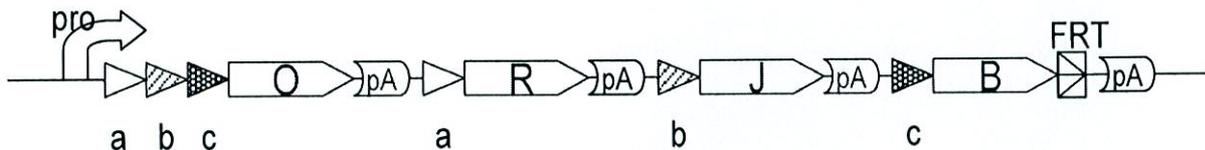


Figure 1 – Construction *Brainbow1.1*.

pro : promoteur constitutif fort      pA : site de polyadénylation  
 a : séquence *loxP* cible de la recombinaise spécifique Cre  
 b, c : variants artificiels de *loxP*, tels que la Cre fonctionne si elle utilise comme substrat deux séquences identiques (aa, bb, cc) mais ne fonctionne pas sur deux séquences différentes  
 O, R, J, et B, codent respectivement pour les variants Orange, Rouge, Jaune, Bleu, de la GFP.

La figure 1 présente la construction *Brainbow-1.1* destinée à être transfectée dans des cellules en culture dans lesquelles l'expérimentateur peut faire exprimer l'enzyme Cre à volonté.

**Q2** Sur des cellules ayant intégré cette construction dans leur génome, quels seront les effets d'une expression transitoire de Cre ? Comment se répartissent les différents phénotypes cellulaires obtenus ?  
 A quelle question fondamentale peut répondre l'utilisation de cette construction ?

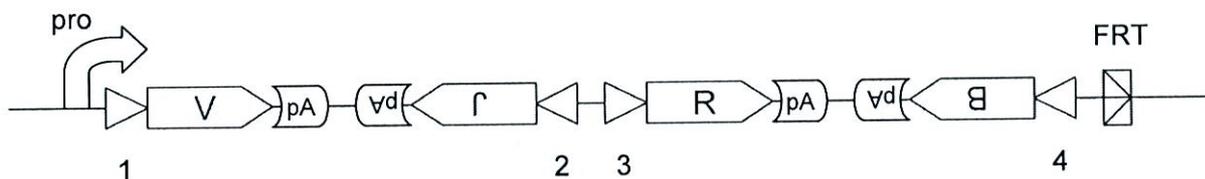


Figure 2 – Construction *Brainbow2.0*.

pro : promoteur constitutif fort      pA : site de polyadénylation  
 1, 2, 3, 4 : séquences *loxP*, cibles de la recombinaise spécifique Cre  
 V, J, R, B : cadres de lecture codant respectivement pour la GFP et ses variants Jaune, Rouge, et Bleu.

Pour pallier les inconvénients de *Brainbow-1.1*, les auteurs proposent la construction *Brainbow-2.0* (Figure 2) n'utilisant que la cible canonique de Cre : *loxP*.

**Q3** Sur des cellules ayant intégré cette construction dans leur génome, quels seront les effets d'une expression transitoire de Cre ? En quoi cette construction est-elle plus performante que la précédente ?

fin

1<sup>ère</sup> Session - Printemps 2009/2010

**ECRIT DE GENETIQUE 3 - BIO3017L – COURS DE MME LOUVEL - DUREE 1H**

**Recherche de mutations supprimeurs restaurant le transport du glucose chez les mutants *snf3* de levure**

Chez *S. cerevisiae* le transport du glucose/fructose est assuré par des perméases spécifiques. Une vingtaine de gènes qui constituent la famille *HXT* (Hexose Transporter) codent pour ces perméases qui sont des protéines membranaires possédant 12 domaines hydrophobes caractéristiques. Appartient également à cette famille *Snf3* qui possède en plus une extension C-terminale de 300 acides aminés.

Ces perméases ont des affinités différentes pour le glucose (haute-affinité ou faible-affinité) et leur mise en place est assurée par l'induction de l'expression des gènes *HXTs* par différents niveaux de glucose.

Parmi les gènes de la famille *HXT*, seule la mutation *snf3* a un phénotype : incapacité des cellules à fermenter le raffinose, c'est-à-dire incapacité à croître sur raffinose + antimycine A, ou phénotype *Raf<sup>-</sup>*. Le raffinose étant hydrolysé à l'extérieur de la cellule, en glucose et fructose, on considère donc que « raffinose = glucose + fructose à faible concentration ».

Il a été montré que *Snf3* n'est pas une perméase de glucose mais un "senseur" de glucose qui détecte la présence de faibles concentrations de glucose extracellulaire. En présence de faibles concentrations de glucose, *Snf3* générerait et transmettrait un signal permettant l'induction de l'expression des gènes de transporteur de glucose de haute-affinité.

De façon à identifier des gènes qui sont fonctionnellement reliés à *SNF3* des révertants de la mutation *snf3* ont été recherchés. De tels révertants indiquant une restauration du transport de glucose haute-affinité sont donc appelés RGT (Restoration of Glucose Transport).

**Gardez cette nomenclature**

**Liste des souches de levure utilisées**

Souche	Génotype
MCY659	<i>MATa snf3-72 ura3-52 lys2-801 ade2-101</i>
MCRY168	<i>MATα snf3-72 lys2-801 his4-539 ura3-52</i>
MCY1408	<i>MATa snf3Δ4::HIS3 his3Δ200 ura3-52 lys2-801 ade2-101</i>
MCY1093	<i>MATa ura3-52 lys2-801 his4-539</i>
MCY1094	<i>MATα ade2-101 ura3-52</i>

**Isolement des révertants**

Deux stratégies ont été utilisées:

**Stratégie 1.** La souche MCRY168 a été mutagénisée aux UV, et les révertants ont été sélectionnés par leur capacité à croître sur raffinose + antimycine A. 38 révertants ont ainsi été obtenus.

**Stratégie 2.** Une mutagénèse a aussi été effectuée sur le diploïde issu du croisement MCY659 x MCRY168. Dans ce cas 5 révertants ont été obtenus.

**Expliquez brièvement les résultats attendus en utilisant 2 stratégies différentes.**

### Analyse des révertants issus de la première stratégie

1. Les 38 révertants issus de la souche MCRY168 ont été croisés avec la souche MCY1408. Dans tous les cas les diploïdes étaient Raf<sup>-</sup>.

**Qu'indique ce résultat ?**

2. L'analyse méiotique de 2 de ces diploïdes Raf<sup>-</sup> a été faite. Dans les 2 cas le phénotype Raf<sup>+</sup> / Raf<sup>-</sup> présentait une ségrégation 2+ : 2-. D'autre part, les spores Raf<sup>+</sup> étaient aussi bien His<sup>+</sup> que His<sup>-</sup>.

**Quelles conclusions peut-on tirer de ces résultats ?**

3. Deux spores Raf<sup>+</sup> issues des 2 méioses précédentes (décrites en 2) ont ensuite été croisées avec les 36 autres révertants. Tous les diploïdes résultants étaient Raf<sup>+</sup>.

**Quelle conclusion peut-on tirer de ce résultat ?**

4. Ces deux spores Raf<sup>+</sup> (décrites en 3) ont également été croisées avec soit la souche MCY1094 et soit la souche MCY1093. L'analyse méiotique des diploïdes issus de ces croisements donnait 3 types de tétrades par rapport à la ségrégation du phénotype Raf<sup>+</sup> / Raf<sup>-</sup> :

4 Raf<sup>+</sup> : 0 Raf<sup>-</sup>, 2 Raf<sup>+</sup> : 2 Raf<sup>-</sup>, 3 Raf<sup>+</sup> : 1 Raf<sup>-</sup>, dans la proportion 1 : 1 : 4.

**Interprétez ce résultat.**

### Analyse des révertants issus de la deuxième stratégie

1. Les 5 révertants obtenus ont été mis à sporuler et soumis à l'analyse méiotique. dans tous les cas, toutes les tétrades contenaient 2 spores Raf<sup>+</sup> : 2 spores Raf<sup>-</sup>. Une spore Raf<sup>+</sup> issue de la méiose d'un de ces révertants a été croisée avec une spore Raf<sup>+</sup> issue de la méiose des 4 autres révertants. Toutes les tétrades issues de ces 4 croisements contenaient 4 spores Raf<sup>+</sup>.

2. Cette même spore Raf<sup>+</sup> (isolée en 1) a également été croisée avec la souche MCY1094. Sur 33 tétrades issues de ce croisement, 13 contenaient 4 spores Raf<sup>+</sup>, 1 contenait 2 spores Raf<sup>+</sup> : 2 spores Raf<sup>-</sup>, 19 contenaient 3 spores Raf<sup>+</sup> : 1 spore Raf<sup>-</sup>.

**Interprétez ces résultats. Comparez avec les révertants obtenus avec la stratégie 1.**

### Etude du gène suppresseur *RGT1*

Un des gènes suppresseurs identifiés, le gène *RGT1* a été cloné. Il code pour une protéine se fixant à l'ADN et possédant un motif à doigt de Zinc que l'on retrouve chez certains facteurs de transcription.

Les effets de la mutation nulle *rgt1Δ* sur la transcription du gène *HXT1* a été testée. Pour cela le promoteur du gène *HXT1* a été fusionné au gène reporter *lacZ* porté par un plasmide répliquatif de levure. La fusion résultante, *HXT1-lacZ* a été transformée dans une souche sauvage et une souche *rgt1Δ*. L'activité β-galactosidase des différents transformants a été mesurée après croissance en présence de concentrations de glucose variables : glycérol = **absence de glucose** ; 0.1% glucose = **bas glucose** ; 4% glucose = **haut glucose**.

Génotype de la souche transformée	Activité β-galactosidase (unités)		
	glycérol	0.1% glucose	4% glucose
<i>RGT1</i>	0.6	1.4	254
<i>rgt1Δ</i>	14	14	225

**Interprétez ces résultats.**

**FAITES DES REPONSES CONCISES, MAIS JUSTIFIEZ VOS REPONSES.  
RESPECTEZ LA NOMENCLATURE**

EXAMEN DE L'UE GENETIQUE ET DYNAMIQUE DES POPULATIONS

Sujet de TD

Durée : 2 heures

- Les calculatrices et tous les documents sont autorisés
- Vos réponses devront être concises, mais justifiées et argumentées.
- Le barème indicatif est donné sur 20 points

Adapté d'après Larmuseau et al. Molecular Ecology (2009) 18, 4227-4239

Le gobi (*Pomatoschistus minutus* ; Figure 1 à droite) est un poisson marin principalement nocturne dont la répartition s'étend de la mer Baltique jusqu'aux eaux méditerranéennes. Il fréquente les côtes et les estuaires, et vit dans des eaux dont la transparence et la couleur varie en fonction des localités. Le gobi se reproduit de mai à juillet. Les mâles construisent des nids, et attirent les femelles qui viennent pondre un grand nombre d'œufs. Le mâle féconde les œufs et défend ensuite son nid jusqu'à l'éclosion des larves. Les adultes nagent assez mal, mais cependant peuvent migrer sur quelques km. Nous allons nous intéresser à la structure génétique des populations de gobi. La Figure 1 à gauche montre la carte de répartition de ces populations.

On s'intéresse en particulier au polymorphisme de la rhodopsine chez les gobis. La rhodopsine est le pigment visuel qui permet la vision de nuit. Il absorbe la lumière avec une longueur d'onde d'environ 500 nm. Un fragment d'ADN de 868 paires de bases a été cloné et séquencé pour 165 gobis appartenant à sept populations (nommées TBS, PBS, BNS, WIS, GOA, AAO et VMS). Huit loci microsatellites ont aussi été génotypés pour ces populations.

Les résultats de cette étude sont consignés dans les tableaux 1 à 6 et les figures 1 à 3.

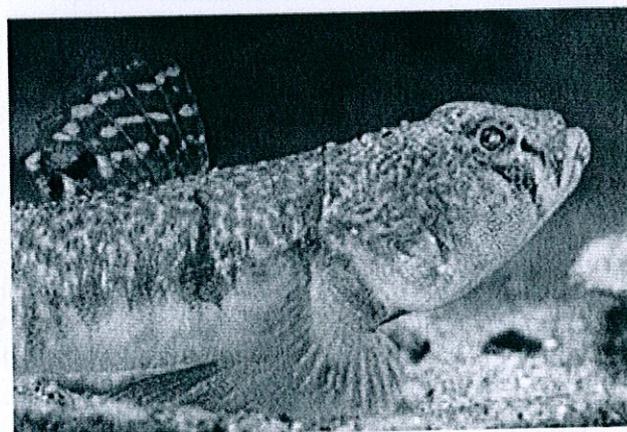
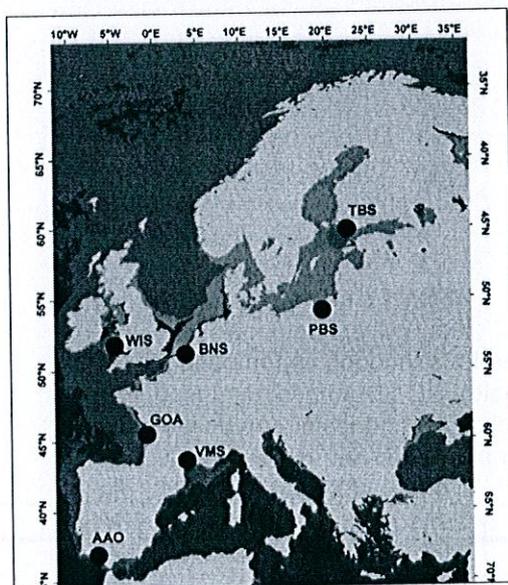


Figure 1 A gauche : Distribution géographique des sept sites d'échantillonnage pour le gobi. A droite : photo de *Pomatoschistus minutus*.

Figure 2 : Arbres UPGMA contruits à partir des distances du tableau 4 (à gauche Rhodopsine, à droite microsatellites)

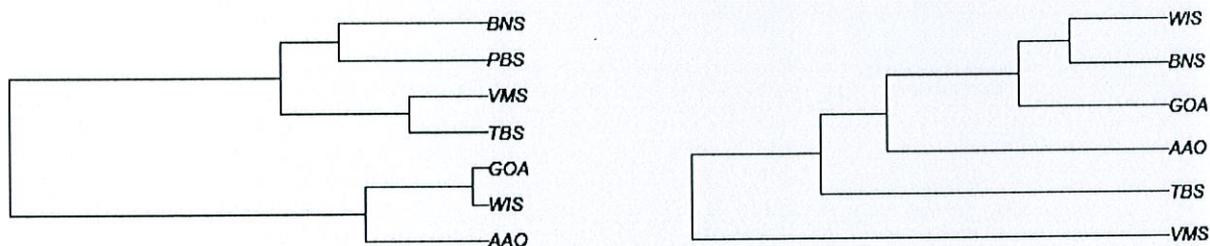


Tableau 5 : Effectifs génotypiques au locus AA261 dans la population TBS, à deux générations successives.

	Génération 1	Génération 2
Phe/Phe	46	30
Phe/Tyr	40	83
Tyr/Tyr	56	62

Tableau 6a : Distribution des haplotypes de 16 individus aux loci AA217 et AA261 dans la population TBS.

Tableau 6b : Distribution des haplotypes aux loci AA151 et AA261 dans la population TBS. Remarque : les fréquences alléliques ne sont pas exactement les mêmes que dans le tableau 2, car le nombre d'individus pour lesquels les données d'haplotypes sont disponibles est légèrement inférieur au nombre d'individus total pour lesquels on a des données de polymorphisme.

tableau 6 a.

AA217	AA261	effectif
Ile	Tyr	9
Ile	Phe	10
Thr	Tyr	12
Thr	Phe	1

tableau 6b.

AA151	AA261	effectif
Asn	Tyr	0
Asn	Phe	5
Thr	Tyr	19
Thr	Phe	8

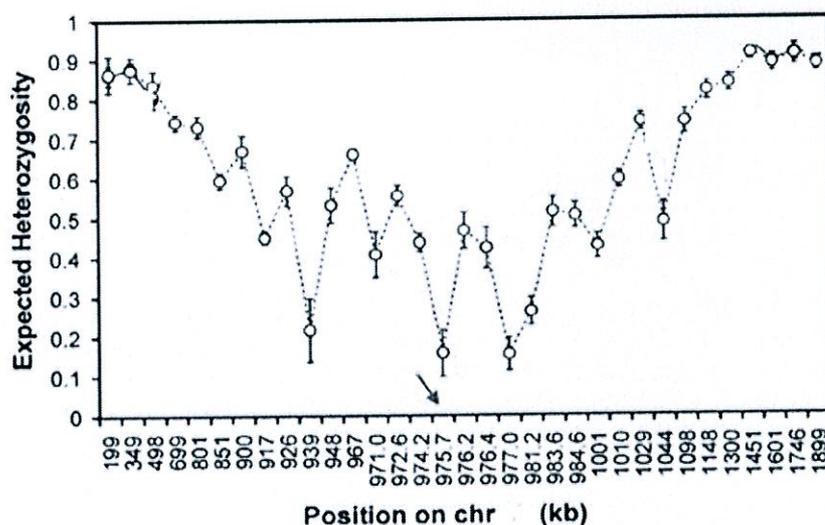


Figure 3 : L'hétérozygotie attendue dans la population TBS a été mesurée sur des marqueurs neutres placés à intervalles réguliers le long du chromosome de gobi. La flèche rouge représente la position de la rhodopsine.

Question 1: Micro1 est un locus microsatellite à 3 allèles, notés A1, A2, et A3. Les données sont présentées dans le tableau 1. La population WIS est-elle à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour ce locus microsatellite ? « Micro2 » est un autre locus microsatellite pour lequel on obtient un  $\chi^2$  observé de 12,1 (tous les génotypes possibles sont observés sur ce locus à quatre allèles). Interprétez les résultats obtenus (pensez à justifier le calcul des ddl).

Les valeurs du  $\chi^2$  seuil à 5% sont :

1ddl : 3.84 ; 2ddl : 5.99 ; 3ddl : 7.81 ; 4ddl : 9.49 ; 5ddl : 11.07 ; 6ddl : 12.59 ; 7ddl : 14.07 ; 8ddl : 15.51, 9ddl : 16.92

Question 2: Sur les loci de la rhodopsine, calculer la distance de Nei entre les populations BNS et TBS, puis entre les populations TBS et VMS (tableau 2).

Question 3 : Pour chaque locus de la rhodopsine, deux Fst ont été calculés : un sur l'ensemble des 7 populations et un sur les populations TBS et VMS (tableau 3). Calculez les 2 Fst manquants dans le tableau 3 puis interprétez vos résultats.

Question 4 : En vous appuyant sur les données disponibles et les réponses aux questions 2 et 3, quelle hypothèse proposeriez-vous pour expliquer les résultats ?

Question 5: Si votre hypothèse est vraie, qu'attendez-vous pour la relation entre la distance entre populations mesurée à l'aide des marqueurs microsatellites et celle mesurée à l'aide des variants de rhodopsine ? Faites un graphique pour tester votre hypothèse et concluez.

Question 6: Le saumon possède une Tyrosine en position 261 de la rhodopsine alors que la truite a une phénylalanine à cette position (il n'y a pas de polymorphisme au sein de ces deux espèces sur ce locus). Le saumon a une vision décalée de 10nm dans le bleu par rapport à la truite. On considérera que les deux rhodopsines ne diffèrent qu'au niveau de cet acide aminé. Quelle hypothèse pouvez-vous formuler sur le rôle de AA261 chez le gobi?

Question 7: A partir du tableau 5, calculez les fréquences attendues des zygotes fabriqués par les individus de la génération 1 pour les différents génotypes. En déduire la valeur des coefficients de sélection associés aux différents génotypes en position 261 dans la population TBS. Interprétez les valeurs obtenues.

Question 8: Calculez le déséquilibre gamétique observé entre AA217 et AA261, puis entre AA151 et AA261 (tableau 6). Comparez qualitativement les deux valeurs. Sachant que dans cette espèce un centimorgan vaut environ 0.74 megabases, et que le gène de la rhodopsine n'a pas d'intron, calculez les déséquilibres gamétiques attendus à la génération suivante. Qu'en concluez-vous ? Quel mécanisme probable peut être à l'origine du déséquilibre éventuellement observé ?

Question 9: Comment se comporte l'hétérozygotie attendue au niveau des marqueurs neutres situés autour d'un variant soumis à une pression de sélection ? Que pouvez-vous conclure des résultats présentés dans la Figure 3?

**UE Génétique et Dynamique des Populations**  
**Epreuve de Cours**  
**Sujet de Génétique des Populations**

*Durée 1h30*

*Tous documents autorisés – Calculatrice autorisée*

**Répondez aux questions suivantes à l'aide d'explications et/ou de calculs appropriés.**

**Question 1-** Dans une population de plantes, un locus microsatellite présente 3 allèles M1, M2, M3 de fréquence  $M1=0,5$ ,  $M2=0,3$  et  $M3=0,2$  mais aucun hétérozygote n'a été observé sur plus de 300 individus analysés.

- a) Comment interpréter ce résultat ?
- b) Calculer la fréquence attendue des hétérozygotes.
- c) Si 4 graines sont prises au hasard pour fonder une nouvelle population, quelle est la probabilité que cette population soit monomorphe ?

**Question 2-** Dans une autre population de plante, les fréquences génotypiques observées pour ce locus microsatellite sont les suivantes :

$M1M1 = 151$     $M2M2=31$     $M3M3= 20$     $M1M2=138$     $M1M3=110$     $M2M3=50$

a) Cette population se reproduit-elle selon un régime de croisements panmictiques (justifier).

On donne :  $\chi^2$  seuil :  $1ddl=3,84$     $2ddl=5,99$     $3ddl=7,81$     $4ddl =9,48$     $5ddl=11,07$     $6ddl=12,59$

b) Quelles conditions, pas réellement testées par cette analyse, serait-il nécessaire de vérifier pour déterminer si la population suit l'équilibre de Hardy-Weinberg ?

**Question 3-** 3 populations de plantes sont échantillonnées le long d'un cline allant d'un milieu non anthropisé (forêt) à des zones de cultures. Les fréquences alléliques à ce locus microsatellites sont les suivantes :

Pop1 :  $f(M1)=0,7$     $f(M2)= 0,15$     $f(M3)=0,15$

Pop2 :  $f(M1)=0,65$     $f(M2)=0,14$     $f(M3)=0,21$

Pop3 :  $f(M1)=0,6$     $f(M2)=0,16$     $f(M3)=0,24$

- a) Calculer l'indice  $F_{st}$  de différenciation génétique entre ces 3 populations
- b) Dans la population 3 proche des cultures, la fréquence d'un allèle de résistance R à un herbicide, dominant sur l'allèle de sensibilité S, est  $f(R)=0,875$  alors que cet allèle R n'a jamais été observé dans les populations 1 et 2. Au regard du résultat obtenu à la question précédente, représenter graphiquement les normes de réaction pour la fitness de ces 3 génotypes RR, RS et SS dans les différents environnements du cline.

**Question 4-** Dans une population, l'haplotype aB (allèle a d'un gène impliqué dans une anomalie génétique et allèle B, site de coupure d'un locus RFLP) montre une fréquence de 0,017. Sachant que les allèles a et B ont comme fréquence allélique  $f(a)=0,4$  et  $f(B)=0,03$

- a) Calculer la valeur du déséquilibre gamétique D et du rapport  $D/D_{max}$  dans cette population.

b) Sachant que la valeur de  $D$  à la génération suivante est 0,0049 et que les fréquences alléliques restent inchangées, estimer le taux de recombinaison entre ces 2 gènes.

### Question 5

- Quelle est la population qui subira le plus de dérive génétique entre :
  - une population de 150 individus ayant un sexe ratio équilibré où toutes les femelles participent à la reproduction mais seul 10 mâles dominants se reproduisent
  - une population dont l'effectif varie de façon cyclique, passant à chaque génération de 250 à 50 individus.

### Question 6

- a) Dans une population de plantes à reproduction autogame le taux d'hétérozygotie théorique mesuré sur de nombreux marqueurs moléculaires considérés comme neutres diminue régulièrement au cours du temps. Qu'en concluez-vous ?
- b) Entre 2 générations successives, ce taux d'hétérozygotie théorique à un locus donné passe de 0,87 à 0,85. Quel est le nombre minimum d'allèles présents à ce locus ? Donner une estimation de la taille efficace de cette population.

### Question 7

Dans une population panmictique, on considère un locus autosomal à deux allèles  $A$  et  $a$  dont les fréquences sont  $p$  et  $q$ .  $A$  est totalement dominant sur  $a$ . On applique un traitement toxique qui tue tous les homozygotes  $aa$  au cours de leur développement. Quelle est la fréquence de l'allèle récessif  $a$  parmi les adultes survivants ?

Si les deux allèles  $A$  et  $a$  (de fréquences  $p$  et  $q$ ) sont codominants, quelle sera la fréquence de l'allèle  $a$  parmi les adultes survivants lorsque le traitement toxique tue la moitié des hétérozygotes  $Aa$  et tous les homozygotes  $aa$  au cours du développement.

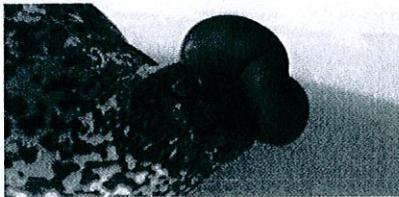
Sachant que la fréquence de l'allèle  $a$  est  $f(a)=0,5$  avant traitement, calculer la fréquence de cet allèle après traitement pour chacune des deux situations. Qu'en concluez-vous sur l'effet de la dominance sur l'évolution de la fréquence d'un allèle contre-sélectionné ?

## UE Génétique et Dynamique des Populations

Epreuve d'Ecrit - Cours Magistral - *Durée 2h00*

*Tout document autorisé – Calculatrice autorisée*

Selon les questions, vous aurez à faire appel à des connaissances issues de votre cours de dynamique et/ou de génétique des populations. 4 questions à traiter en 4 pages maximum



### – 1<sup>ère</sup> question

La mise bas des phoques à capuchon a lieu sur la banquise autour de l'île Jan Mayen, dans le détroit de Davis, au large de la côte nord-est de Terre-Neuve et dans le golfe du Saint-Laurent. Cependant les relations entre les différents groupes reproducteurs observés sur ces différents sites sont mal comprises :

- 1) Quels types d'analyses mettriez-vous en œuvre pour apporter des informations concernant ces différents groupes reproducteurs ? Explicitiez les protocoles d'échantillonnage et de récolte de données, le type d'informations recherchées et les méthodes d'analyse que vous mettriez en place. Quels paramètres pourriez-vous alors calculer et pour quelles raisons ?

### – 2<sup>ème</sup> question

Une question intéressante pour la pratique de la conservation de ces populations est comment la croissance de la population change en réponse des décisions de conservation qui influent sur un ou plusieurs paramètres démographiques qui ont été estimés chez les mâles et les femelles.

- 2) Quels paramètres démographiques seraient-ils nécessaires d'estimer dans ces populations pour répondre à la question posée ? Quelles méthodes d'analyse (en détaillant leur principe rapidement) vous permettraient de répondre à la question ?

### – 3<sup>ème</sup> question

Quelle complémentarité voyez-vous entre les études de suivi d'effectifs et les études qui portent sur les paramètres démographiques ?

**- 4<sup>ème</sup> question**

Au sein de leur aire de répartition, la plupart des espèces animales et végétales montrent une forte structuration spatiale, à différentes échelles, qui résulte de la fragmentation de leur habitat. Quels sont les approches et les outils de la dynamique et de la génétique des populations permettant d'appréhender une telle organisation. Vous présenterez les avantages, les limites et la complémentarité de chacune des approches.

Licence L3

Examen de TD de DGP

Sujet de Dynamique des Populations

*Calculatrice, documents autorisés*

Durée : 1h30

Le Grimpereau des bois *Certhia familiaris* est un passereau emblématique des milieux forestiers. Dans une population suivie sur le long terme, les femelles sont matures sexuellement l'année qui suit leur naissance. La reproduction est saisonnière et, chaque année, 20% des femelles de 1 an et 60% des femelles de plus de 1 an se reproduisent. Les femelles pondent en moyenne 4 œufs par an quelque soit leur âge. La sex-ratio à la naissance est équilibrée. La survie entre la naissance et 1 an est de 0,5. Elle est de 0,4 entre 1 et 2 ans. La survie est constante après 2 ans et est égale à 0,6. Les comptages sont effectués avant la reproduction.

- 1/ Ecrivez la matrice de Leslie M correspondant à ce scénario démographique.
- 2/ Calculez le taux de multiplication annuel et la structure d'âge stable correspondant à cette matrice de Leslie. Comment devrait-on calculer les valeurs reproductives par classe d'âge ?
- 3/ Interprétez les résultats.
- 4/ Si vous devez gérer l'espèce pour assurer sa survie dans la population suivie, sur quel paramètre décideriez-vous d'agir, en considérant que la durée de génération de cette espèce est inférieure à 2 ans ? justifiez votre réponse.
- 5/ Quel est le temps nécessaire pour que l'effectif de la population soit divisé par 2 ?
- 6/ Pour assurer la stationnarité de la population, les scientifiques décident de protéger les jeunes de 1 an, augmentant ainsi leur survie. Calculer la survie des individus entre 1 et 2 ans nécessaire pour assurer la stationnarité.
- 7/ Après plusieurs années, on constate que la survie après 2 ans n'est plus constante mais peut se découper en une survie égale à 0,55 entre 2 et 3 ans et de 0,63 chez les individus de plus de 3 ans. Les valeurs des autres paramètres restent inchangées. Ecrivez la nouvelle matrice de Leslie correspondant à ce scénario démographique.

Bio 3032

**Licence de Biologie - Mention Biologie Générale, Sciences de la Terre  
et de l'Univers (BGSTU)  
Grandes Fonctions et Biodiversité Végétales  
Cours de G. Gay (Grandes Fonctions)**

**Session de Juin 2010**

Après avoir présenté, sans entrer dans le détail, les principales caractéristiques du transport de la sève brute et de la sève élaborée dans les arbres, expliquez :

- La force motrice à l'origine de chacun de ces transports,
- L'origine de cette force motrice.

Un exposé pédagogique, c'est à dire clair, structuré et bien illustré, sera apprécié.

BIO 30 21 L

**UE Grandes Fonctions Animales 2 29 Juin 2010 – Session 2**

**Sujet de Cours de Physiologie Animale (Durée 45 min)**

**La filtration glomérulaire rénale chez les mammifères: décrire les principales structures et les mécanismes mis en jeu.**

*Il sera tenu compte dans la notation du soin apporté à la structure et à l'illustration de l'exposé ainsi que de la qualité de la rédaction.*

BIO 3021 L

**Licence de Biologie**  
**Parcours Biologie Générale et Sciences de la Terre et de l'Univers**  
**UE Grandes Fonctions Animales 2**  
**Ecrit – 2ème Session**  
**29 juin 2010**

Sujet S. Dolédec - (durée conseillée 45 mn)

**Question 1 :** La Figure 1 ci-dessous (tirée de Barnes R.S.K., Calow P. & Olive P.J.W. (1993) *The invertebrate a new synthesis*, Blackwell Scientific Publications) rend compte des capacités osmorégulatrices de diverses espèces d'invertébrés. Définir les capacités de 4 d'entre elles et en déduire leur potentiel de colonisation des eaux douces ou saumâtres (10 points).

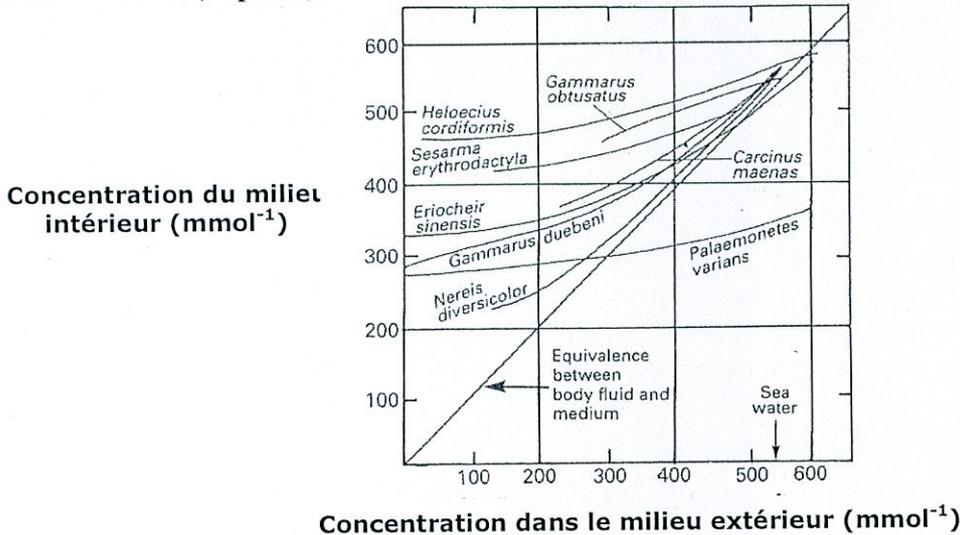


Figure 1. Réponse du milieu intérieur de 8 espèces d'invertébrés aux variations de concentration du milieu extérieur (Sea water: valeur pour l'eau de mer).

**Question 2 :** La Figure 2 ci-dessous (tirée de Barnes R.S.K., Calow P. & Olive P.J.W. (1993) *The invertebrate a new synthesis*, Blackwell Scientific Publications) exprime le lien (droites de régression) entre la masse corporelle de représentants de trois groupes d'organismes et la quantité d'oxygène nécessaire au transport d'une unité de masse sur une distance de 1 km.

- Que représente l'axe des Y pour l'animal ? (2 points)
- Pourquoi les trois droites sont-elles de pente négative ? (3 points)
- Expliciter la différence entre les trois droites de régressions ? (3 points)
- Où se situerait la droite associée à une locomotion terrestre proprement dite dans ce schéma ? (2 points)

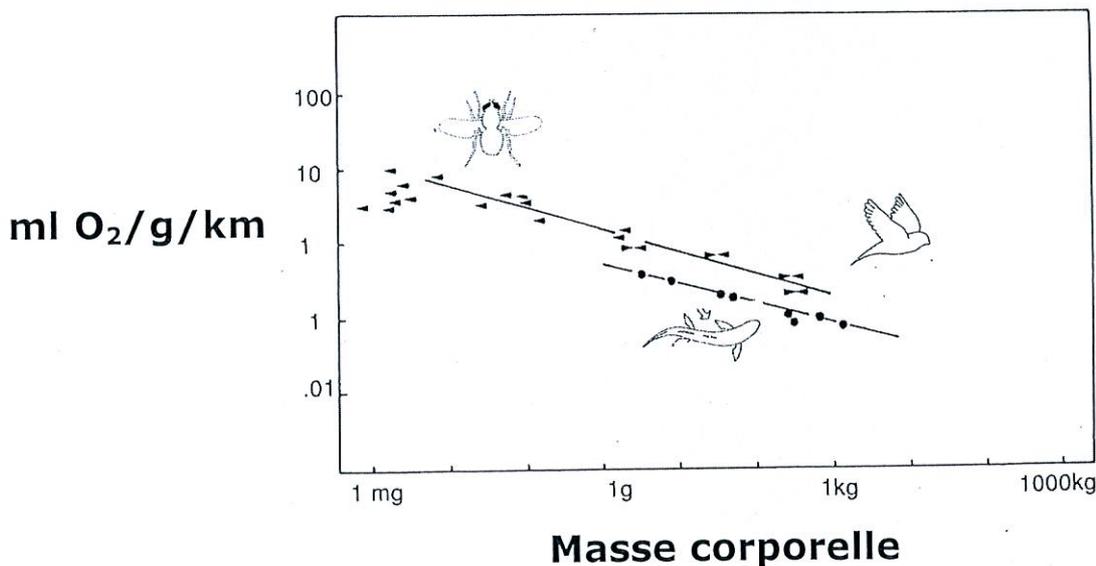


Figure 2. Relations entre masse corporelle et consommation en oxygène de différents groupes d'organismes.

## Grandes Fonctions Biodiversité Végétale BIO3022L

Epreuve Cours magistral de F. Thévenard (0h45)  
Mercredi 30 juin 2010, amphithéâtre Thémis 7

Sujet F. Thévenard Biodiversité Végétale

Les Angiospermes sont représentées par plus de 270000 espèces. La systématique traditionnelle est essentiellement basée sur les caractères morpho-anatomiques. Les appareils végétatifs et reproducteurs montrent une très grande variabilité susceptible de permettre l'individualisation de ces 270000 espèces.

Question 1 : Décrire **succinctement** sous la forme d'un tableau, d'un dessin ou d'un texte le caractère « fleur » des Angiospermes. Quelles sont les principales variations que l'on peut trouver sur ce modèle « fleur » ?

Question 2 : Certaines familles d'Angiospermes sont caractérisées par une inflorescence ou une construction florale particulière. Pouvez-vous en citer deux et décrire leurs caractéristiques propres (texte, diagrammes floraux et/ou dessins) ?

# Grandes Fonctions Biodiversité Végétale

## BIO3022L

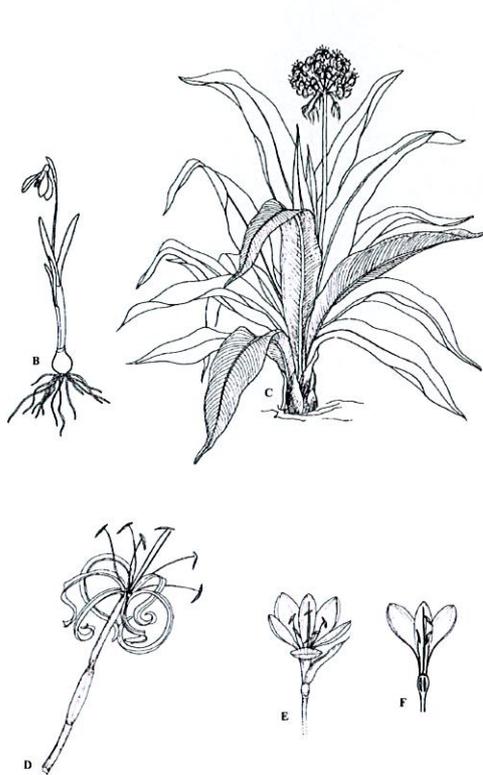
Epreuve Cours magistral de F. Thévenard (1h00)  
Jeudi 10 juin 2010, amphithéâtre Caullery

Quelles sont les caractéristiques des familles des :  
Liliacées ; Amaryllidacées et Iridacées ?

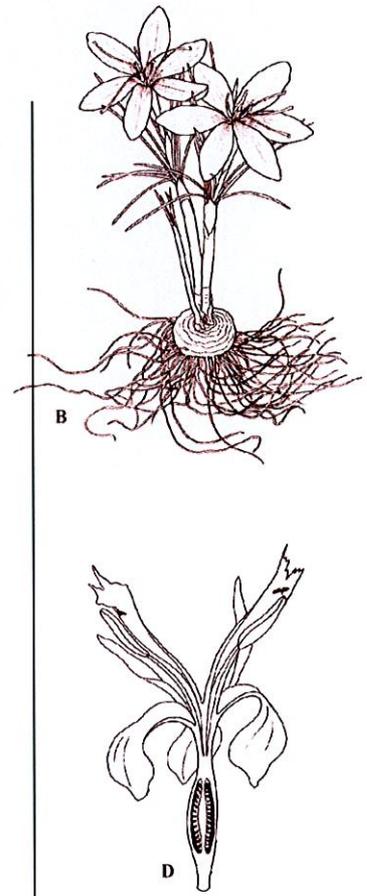
Comparez leurs diagrammes floraux que vous pouvez construire à partir des trois illustrations proposées.



Liliacées

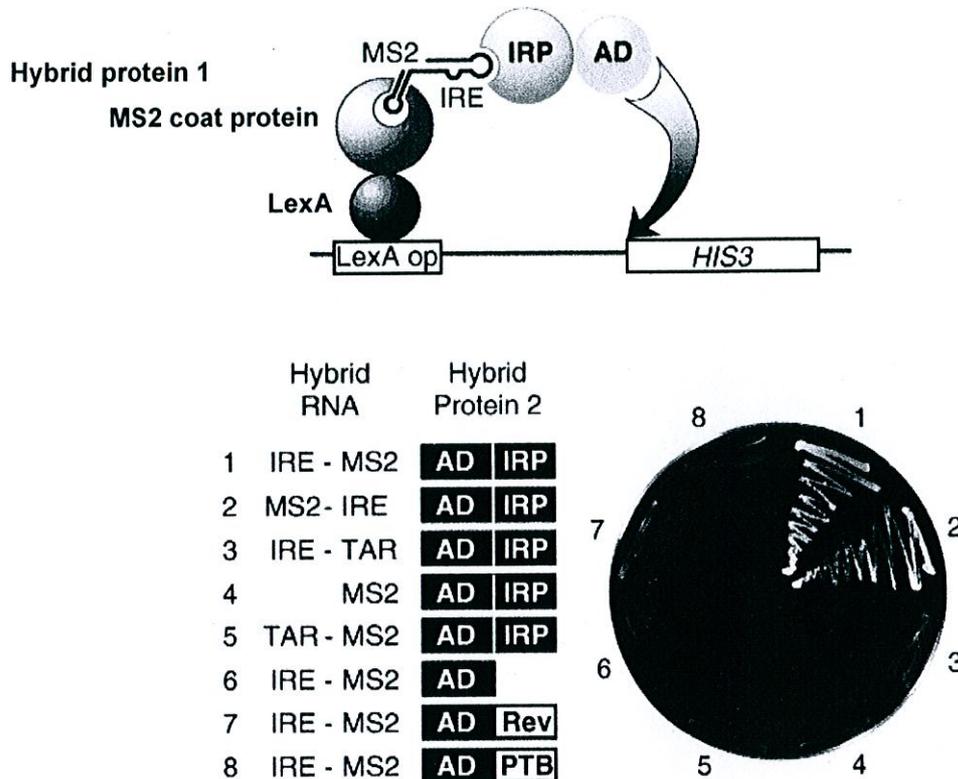


Amaryllidacées



Iridacées

## Sujet 2 : Durée conseillée 45 min

**Résultats d'une expérience de triple hybride chez la levure  
(Bernstein et al., 2002)****Légende de la figure :**

La levure utilisée dans ce test est auxotrophe pour l'histidine. Les colonies de levure pourvues des plasmides destinés au triple hybride sont testées pour leur croissance sur milieu sans histidine.

**Système rapporteur :**

Site ADN de fixation du domaine protéique LexA (*LexA op*) placé en amont du gène *HIS3* conférant la prototrophie pour l'histidine.

**Première protéine hybride :**

Domaine protéique LexA de fixation à l'ADN fusionné à la protéine d'enveloppe du virus à ARN MS2 (*MS2 coat protein*).

**Plusieurs hybrides d'ARN possibles (*Hybrid RNA*) :**

MS2 = ARN viral MS2 interagissant avec la protéine d'enveloppe du virus MS2.

IRE = ARN dont on souhaite tester l'interaction avec la protéine IRP.

TAR = ARN témoin non spécifique de l'interaction recherchée.

**Plusieurs possibilités de 2<sup>ème</sup> protéine hybride (*Hybrid Protein 2*):**

AD = Domaine activateur de transcription de GAL4.

IRP = Domaine protéique dont on souhaite tester l'interaction avec l'ARN IRE.

Rev et PTB = Domaines protéiques témoins non spécifiques de l'interaction recherchée.

**Analyser et interpréter chacun des résultats issus de cette figure.**

**Sujet 1 : Durée conseillée 45 min**

L'évaluation sera basée sur la pertinence et la qualité de la rédaction (abréviations intempestives et fautes d'orthographe sanctionnées) et des illustrations.

**A. Expliquez, à l'aide de schémas, comment réaliser la transformation d'un champignon filamentueux :**

- par fusion de protoplastes
- par biolistique

**N'oubliez pas de répertorier le matériel biologique et les outils techniques nécessaires à ces expériences.**

**NB : Ces expériences sont réalisables quels que soient les vecteurs de transformation choisis, le détail de ces vecteurs n'est donc PAS demandé.**

**B. Schématisez et légendez un vecteur de transformation de champignon filamentueux utilisé pour réaliser l'inactivation d'un gène, nommé *Cazy1* :**

- par recombinaison homologue,
- par interférence d'ARN

**Examen de Microbiologie - UE microbiologie immunologie BIO3028L****L3 BGSTU première session Janvier 2010****Durée de l'épreuve 1h30 / deux sujets, répondre sur des copies séparées**

Les qualités de présentation et de rédaction de votre travail seront prises en compte dans votre note

Sujet n°1 (sujet de Pascale Cotton, sur 15 points)

---

●Le cholera est une maladie sévère causée par le vibron Gram<sup>-</sup> *Vibrio cholerae*. Malgré les efforts de recherche, le cholera affecte plus de 5 millions de personnes par an et constitue un problème de santé publique majeure. *Vibrio cholerae* colonise la partie supérieure de l'intestin grêle chez l'homme. Les aspects cliniques du cholera sont dus en premier lieu à l'activité d'une toxine AB.

**question 1**

- Décrivez la structure et le fonctionnement des toxines de type AB.
- Quel est le mode d'action particulier de la toxine cholérique ?
- Quels sont les symptômes de cette maladie

●En plus de la production de toxine, *V. cholerae* exprime un autre facteur de virulence corrélé à la production de toxines : un pilus de type IV.

**question 2**

- En quoi consiste cet élément bactérien? (structure, localisation cellulaire et sub cellulaire précise)
- En quoi peut elle contribuer à la virulence de la bactérie ?

●Les quinolones sont les antibiotiques couramment utilisés pour traiter les patients atteints. Cette famille d'antibiotiques cible la synthèse d'ADN. Cependant, des phénomènes de résistance sont de plus en plus constatés. L'analyse du génome d'une souche multi-drogue résistante a permis d'isoler le gène qnrVC3 codant pour une protéine constituée de sous unités répétées d'un pentapeptide.

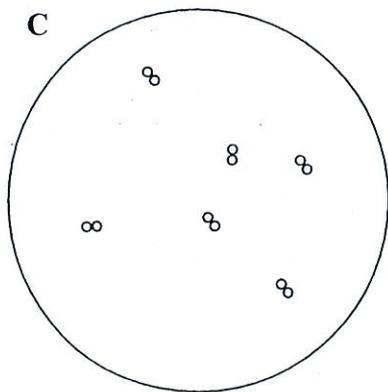
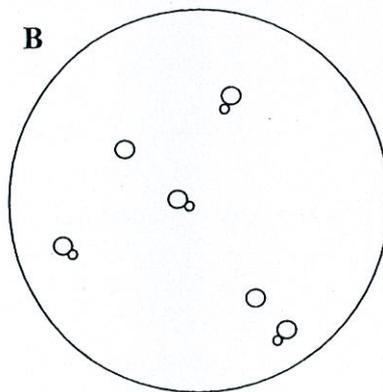
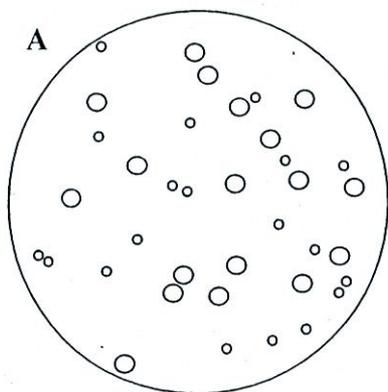
**question 3**

- Comment agissent précisément les quinolones ?
- La protéine QNRVC3 n'est pas dotée de fonctions enzymatiques et elle n'est pas localisée dans la membrane plasmique. Par contre elle présente une forte affinité pour l'ADN. Quel pourrait être le rôle de cette protéine dans la résistance aux quinolones ?

Sujet n°2 (sujet de Mathias Choquer, sur 5 points)

Un laboratoire d'analyse alimentaire doit étudier la qualité microbiologique d'une bière ayant « tourné » (son goût est altéré par le dégagement d'une saveur acide). Un prélèvement de bière est réalisé au cours du processus de fabrication juste avant les étapes de microfiltration et de conditionnement. Le prélèvement est dilué et isolé sur gélose PCA (milieu de culture gélosé « ordinaire » coulé en boîte de pétri pour le dénombrement, en microbiologie alimentaire, des bactéries et des champignons). Après incubation, plusieurs colonies sont observées à l'état-frais au microscope (observation vitale). Des réponses concises sont attendues pour les questions suivantes :

1) Que concluez-vous des résultats ci-après ?



**A :** Observation macroscopique d'une gélose PCA après isolement de la flore microbienne totale du prélèvement dilué de bière.

**B :** Observation microscopique à l'état-frais à partir des grosses colonies isolées sur PCA (Grossissement x100).

**C :** Observation microscopique à l'état-frais à partir des petites colonies isolées sur PCA (Grossissement x1000).

2) A quoi sert l'étape de microfiltration au cours du processus de fabrication de la bière juste avant l'étape de conditionnement ? Sur quel principe repose-t-elle ?

3) Indiquez, pour chacun des tests suivants, s'il est adapté ou non à l'identification du germe de la figure C : Coloration de Gram, Coloration au vert de malachite ; Catalase ; Type respiratoire ; Galerie Api20E ? Justifiez votre réponse pour chaque test.

**Sujet de C. Delprat-Servet (durée : 1h30)**

**1. Questions de cours (10 points):**

- 1.1. Qu'est-ce que la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps ou « ADCC »? (2 points).  
1.2. Expliquez pourquoi le déficit en protéine RAG1 ou RAG2 est à l'origine d'un phénotype d'immunodéficience combinée sévère ou « SCID » (4 points).  
1.3. Nommer et décrire deux mécanismes de réponse immunitaire innée : l'un contre des bactéries, l'autre contre des virus. (4 points).

**2. La réponse immunitaire anti-Mycobactérienne (10 points)**

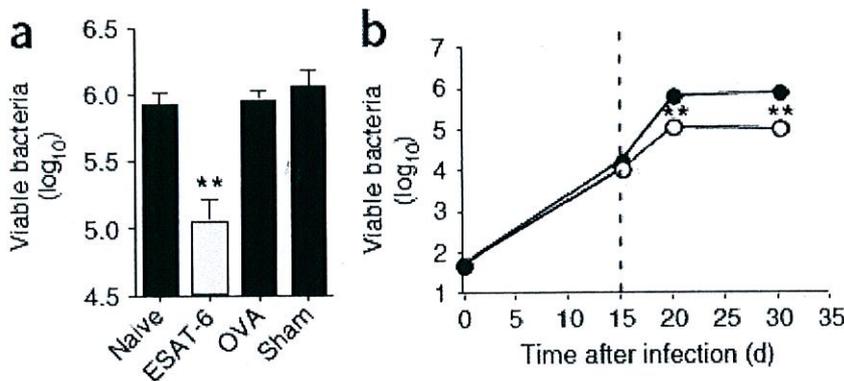
L'étude vise à comprendre comment protéger de l'infection pulmonaire par *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Les souris sont vaccinées avec un peptide antigénique restreint par I-Ab qui correspond aux acides aminés 1 à 20 d'une protéine de 6kDa, sécrétée par *Mtb* et appelée ESAT-6. L'adjuvant utilisé est appelé « Sham » et contient MPL+TDM+DDA : MPL (monophosphoryl lipid A) stimule le Toll-like récepteur 4 (TLR4), TDM (trehalose dicorynomycolate) stimule les voies de transduction MyD88 et DDA (diméthyl dioctadécylammonium bromide) est une petite molécule cationique qui adsorbe l'antigène et le libère peu à peu. Après vaccination, l'épreuve d'infection de la souris par *Mtb* est menée par voie aérosol.

2.1. Rappeler ce qu'est un adjuvant et commenter la composition de l'adjuvant utilisé en fonction de votre définition (2 points)

2.2. Commenter les figures a,b qui mesurent le nombre de *Mtb* vivantes dans les poumons après épreuve d'infection de souris soit naïves, soit vaccinées avec (i) le peptide d'ESAT-6+Sham (ESAT-6), (ii) un peptide d'ovalbumine d'œuf de poule+Sham (OVA), (iii) l'adjuvant seul (Sham). (2 points)

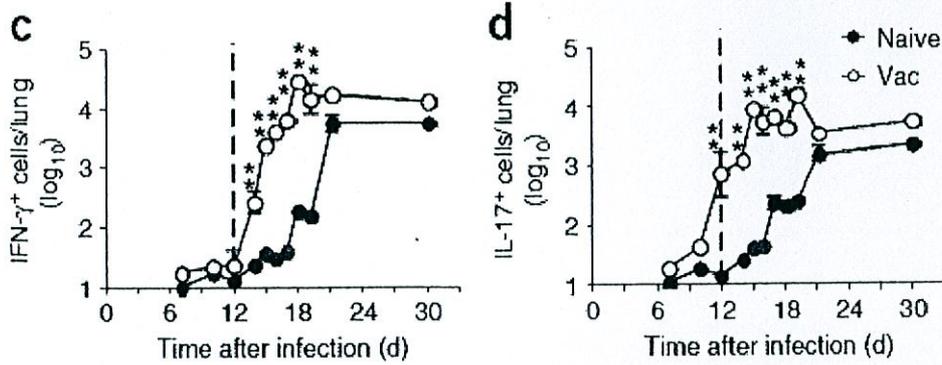
Figure a,b :

- Naive
- Vac

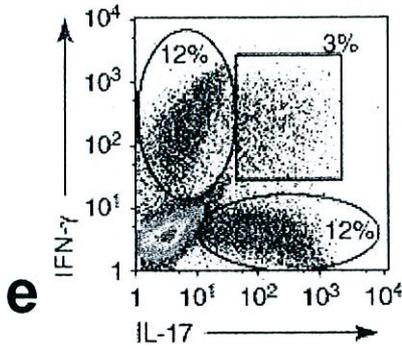


2.3. Commenter les figures c, d, e qui mesurent les productions de deux cytokines, l'interféron gamma et l'interleukine 17, par les lymphocytes T des souris soit naïves, soit vaccinées par ESAT-6+Sham. (3 points)

- Naive
- Vac



Dans la figure « e », l'analyse d'une souris vaccinée avec ESAT-6+Sham (représentative de 5 souris) est rapportée: un point représente un lymphocyte T.



2.3. Par ailleurs, les souris font des granulomes (accumulation massive de cellules du système immunitaire) autour de *Mtb* quand elles parviennent à survivre. Les chercheurs ont observé que les souris (vaccinées ou non), déficientes pour le récepteur de l'interféron gamma font bien des granulomes autour des bactéries mais ne contrôlent pas l'infection par *Mtb* et ne survivent pas, cependant que les souris déficientes pour le récepteur de l'interleukine-17 sont incapables de faire des granulomes et contrôlent très difficilement l'infection par rapport à des souris sauvages. Schématisez la réponse immunitaire contre *Mtb* réalisée dans la souris, en remplaçant le rôle des cytokines grâce aux informations apportées par ces expériences et à vos connaissances. (3 points).

**Licence de Sciences et Technologies. UE Microbiologie 2. Session 1. Janvier 2010**

Durée de l'épreuve : 2 heures. Documents non autorisés

**ATTENTION : Les 2 épreuves sont OBLIGATOIRES. Rédigez sur 2 copies SEPARÉES les 2 épreuves**

**Epreuve concernant le cours de pascale Cotton**

Le cholera est une maladie sévère causée par le vibron Gram<sup>-</sup> *Vibrio cholerae*. Malgré les efforts de recherche le choléra affecte plus de 5 millions de personnes par an et reste un problème de santé publique majeure. *Vibrio cholerae* colonise la partie supérieure de l'intestin grêle chez l'homme. Les aspects cliniques du cholera sont induits en premier lieu par l'activité d'une toxine AB. En plus de la production de toxine, *V. cholerae* exprime un autre facteur de virulence corrélé à la production de toxines : un pilus de type IV.

A) En quoi consiste cet élément bactérien ? (structure, localisation cellulaire et sub cellulaire précise)

B) En quoi peut il contribuer à la virulence de la bactérie ?

Les quinolones sont les antibiotiques couramment utilisés pour traiter les patients atteints du cholera. Cette famille d'antibiotiques cible globalement la synthèse d'ADN. Cependant, des phénomènes de résistance sont de plus en plus constatés. L'analyse de la séquence du génome d'une souche multi-drogue résistante et sa comparaison avec une souche sensible a permis d'isoler le gène *qnrVc3* codant pour une protéine constituée de sous unités répétées d'un pentapeptide.

C) Comment agissent précisément les quinolones ?

D) La protéine QNRVC3 n'est pas dotée de fonctions enzymatiques et elle n'est pas localisée dans la membrane plasmique. Par contre elle présente une forte affinité pour l'ADN. Quel pourrait être le rôle de cette protéine dans la résistance aux quinolones ?

E) Quelles expériences pourriez-vous entreprendre pour prouver expérimentalement que cette protéine est bien associée à la résistance aux quinolones ?

## Epreuve concernant le cours de Nathalie Poussereau

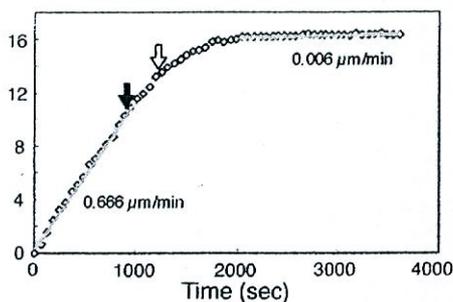
### Question 1.

*Escherichia coli* (souches EPEC ( entéropathogènes )) et *Shigella dysenteriae* sont des entérobactéries pathogènes de l'homme. A l'aide de schémas simplifiés, montrez en quoi leur stratégie infectieuse présente des similitudes et différences.

### Question 2.

Culture d'*Aspergillus nidulans* en présence de différents composés

- A. Une souche d'*Aspergillus nidulans* est cultivée en boîte de Pétri en milieu liquide riche non agité. A  $t=900$  sec (flèche noire) du benomyl, molécule qui provoque la dépolymérisation des microtubules est apporté. La croissance du champignon (exprimée en  $\mu\text{m}$ ) est suivie en fonction du temps. On obtient le résultat suivant

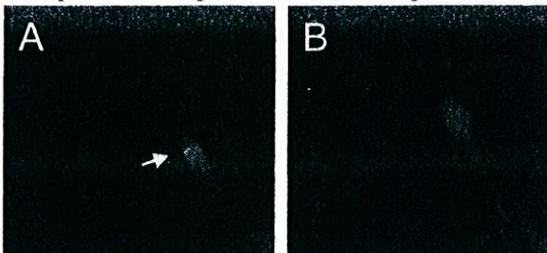


Que peut-on en conclure ? Comment interprétez-vous ce résultat ?

La même expérience est reprise avec une souche GFP-tubuline.

Représentez schématiquement l'image visualisée au microscope à fluorescence à  $t=800$ s et à  $t=1200$ s (flèche blanche)

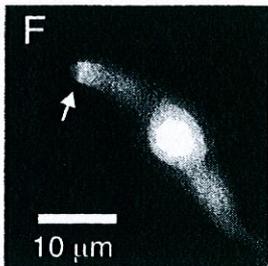
- B. Dans une autre expérience, une souche d'*Aspergillus* GFP-actine est cultivée dans un milieu nutritif et de la cytochalasine A (composé qui dépolymérise les filaments d'actine) est ajoutée. Des photos sont prises au microscope à fluorescence. Les clichés obtenus sont les suivants :



A : avant ajout de la cytochalasine A

B : 10 min après l'ajout

1. Interprétez ces 2 clichés
2. Dans un second temps, le milieu contenant l'inhibiteur est remplacé par du milieu nutritif et un troisième cliché est réalisé au bout de 110 min.



Interprétez ce cliché.

3. Quels sont les rôles de la tubuline et l'actine lors de la croissance apicale ?

**Sujet d'examen écrit de Microbiologie Appliquée – 1<sup>ère</sup> session**  
**Juin 2010 – durée : 1h30.**

**Exercice 1 :** (temps conseillé - 45 min)

**Dosage d'une activité xylanase hétérologue de moisissure exprimée chez une levure initialement déficiente en xylanase :**

Le gène codant pour cette xylanase est sous le contrôle de son propre promoteur chez la levure. La levure recombinante a été cultivée à 30°C dans 4 milieux de culture liquide différents pendant 1 semaine. Ces milieux diffèrent de part leur composition en source de carbone : A) Glycérol; B) Xylose; C) Xylane; D) Glycérol + Xylose. La quantité de Xylane dans le mélange réactionnel est toujours saturante et ne limite pas la réaction enzymatique

**Gamme étalon de Xylose :**

Quantité de Xylose par tube (µg)	0	20	40	60	80	100
DO à 410 nm (lue contre le blanc)	0	0,348	0,572	0,926	1,02	1,048

**Réaction enzymatique :**

Mélange réactionnel	A	B	C	D
Xylane	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl
Tampon à pH8	2,4 ml	2,4 ml	2,4 ml	2,4 ml
Filtrat de culture dilué au 1/5	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl

30 minutes à 30°C

**Dosage du xylose libéré :**

	A	B	C	D
Mélange réactionnel	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Mélange utilisé pour les blancs	0 µl	0 µl	0 µl	0 µl
Réactif PAHBAH 0,5% (NaOH 500 mM)	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
DO à 410 nm (lue contre le Blanc adéquat)	0,153	0,604	0,597	0,449

- 1) Pour chacun des dosages A, B, C et D, quelle doit-être la composition du tube qui lui sert de blanc ? justifiez votre réponse.
- 2) Calculez pour chaque essai, l'activité Xylanase secrétée en mg de xylose libéré / min / ml de filtrat de culture. Exprimez les résultats avec une seule décimale. Détaillez votre calcul.
- 3) Que pouvez-vous conclure de ces résultats ?

**Exercice 2 :** (temps conseillé - 30 min)

Quel protocole expérimental proposeriez-vous pour rechercher un actinomycète producteur de xylanases à partir d'un échantillon de sol ? Détaillez chacune des étapes en les justifiant.

**Exercice 3 :** (temps conseillé – 15 min)

Schématisez et annotez le cycle de reproduction sexuée d'un zygomycète.

## Outils et Bases Moléculaires

### Examen de TD-TP Durée une heure, à rédiger sur une copie

#### Calculatrices non autorisées

Le gène *h-chol* code la protéine hCHOL (*human CHOL*). L'expression de cette protéine dans les cellules est soumise à un contrôle traductionnel dépendant du cholestérol : L'ARNm de *h-chol* est traduit uniquement lorsque les cellules sont en présence de cholestérol.

Afin d'étudier le gène *h-chol in vivo* chez la souris, vous devez produire des lignées de souris transgéniques portant ce gène. Pour ce faire, vous souhaitez introduire l'ADNc du gène *h-chol* sous le contrôle d'un promoteur constitutif, dans des souris *Knock-Out m-chol/-* (souris dont le gène *m-chol* endogène, l'homologue murin du gène *h-chol*, a été préalablement inactivé).

Vous disposez d'un plasmide contenant l'ADNc du gène *h-chol*, dont la séquence est écrite ci-dessous.

#### Séquence de l'ADNc du gène *h-chol*

(grisé : codons initiateur et d'arrêt de la traduction)

```
1      gccaaaactt cagcacagaa atagatgttg actttcacc tctccctaaa
51     aagatcaaga acagacgcaa gaaagtatat gcgaagacag aatttggatt
101    tgggaaggctt gcaatgtggt cgactacctt ttgataagca aaatttgaaa
151    ccatttaaag accactgtat ttttaactcaa caataacctgc ttcccaatta
201    ctcatctcct cagataagaa gaaatcatct ctacaatgta gacaacatta
251    tattttatag aatttgtttg aaattgagga agcagtaaa ttgtgcgctg
301    tattttgcag attatgggga ttcaaattct agtaataggc ttttttattt
351    ttatttttat acccttaacc agtttaattt tttttttcct cattgttggg
401    gacgacgaga tgggaaataa caacgaccta
```

#### I. Le principe de la PCR (*durée conseillée 20 minutes*)

1. Citez les différentes étapes (avec les températures correspondantes) d'un cycle d'amplification et expliquez brèvement (3 à 10 mots) chaque étape.
2. Représentez par un schéma légué l'étape de fixation des amorces à la région ciblée (emplacement et orientation des brins et des amorces).
3. Nommez, orientez et écrivez la séquence des amorces (20 nucléotides de long chacune) nécessaires pour amplifier la région codante, allant du premier nucléotide du codon initiateur au dernier nucléotide du codon d'arrêt (stop) de la traduction.
4. Quelle est la taille exacte du fragment qui sera amplifié par la PCR ?

## II. Le clonage (durée conseillée 15 minutes)

Vous désirez introduire le fragment correspondant à la séquence codante de *h-chol* (codons initiateurs et stop compris) dans un vecteur nommé pUC, entre les sites Bam *HI* (5'G/GATCC3') et Eco *RI* (5'G/AATTC3'), présents dans le site multiple de clonage (MCS).

1. En vous basant sur les amorces conçues précédemment (I), nommez, orientez et écrivez la séquence des nouvelles amorces (20 nucléotides chacune) nécessaires pour l'amplification du fragment d'ADNc à cloner dans le vecteur pUC. Quelle sera la taille du fragment amplifié par la PCR avec ces amorces ?

Une fois le fragment amplifié et contenant les sites de restriction désirés, vous préparez l'insert et le vecteur afin de réaliser la ligation de l'un dans l'autre. Pour cette étape, il faut mettre l'insert 3 fois en excès en nombre de molécules par rapport au vecteur.

2. Calculez la quantité d'insert (en ng) à utiliser lors de la réaction de ligation sachant que vous devrez utiliser 10 ng du vecteur pUC faisant 4 080 pb.

## III. L'analyse des cellules souches transgéniques (durée conseillée 25 minutes)

Le fragment amplifié et cloné a été transfecté dans des cellules ES (*embryonic stem cells*), obtenues à partir d'embryons de souris *Knock-Out m-chol -/-*. Vous avez sélectionné et isolé des clones de cellules ES transgéniques. Vous supposez que le transgène a bien été intégré dans le génome de ces cellules ES, mais vous devez le vérifier.

Vous disposez d'une solution de cholestérol, du plasmide contenant l'ADNc du gène *h-chol*, ainsi que d'un anticorps dirigé contre la protéine hCHOL

1. Proposez un protocole expérimental pour vérifier que le gène *h-chol* humain a bien été intégré dans le génome des cellules ES sélectionnées (nom de la technique et étapes principales, sans oublier le(s) témoin(s) biologique(s)).  
Représentez par un schéma légendé les résultats attendus.
2. Les cellules ES peuvent-elles exprimer la protéine hCHOL naturellement ? Justifiez votre réponse. Si non, dans quelles conditions ?
3. Proposez un protocole expérimental pour vérifier que le gène *h-chol*, intégré dans le génome des cellules ES, permet l'expression de la protéine hCHOL (nom de la technique et étapes principales, sans oublier le(s) témoin(s) biologique(s)).  
Représentez par un schéma légendé les résultats attendus.

### Outils et Bases Moléculaires

#### Examen de Cours

Durée une heure, à rédiger sur une seule copie

**Question 1** (*durée conseillée 20 minutes*)

- 1 - Définir et décrire une unité de transcription
- 2 - A l'aide de schémas annotés indiquant tous les éléments importants, représentez
  - la structure d'un gène opéron procaryote codant 3 protéines et le produit de sa transcription
  - la structure d'un gène eucaryote composé de 3 exons et la structure de l'ARN messager mature correspondant.
- 3 - Citez les différences majeures quand à la production et la structure de ces 2 ARN.

**Question 2** (*durée conseillée 10 minutes*)

(Vrai/Faux) Dans les cellules vivantes, la chromatine adopte généralement la forme étendue en « collier de perles ». Justifiez votre réponse.

**Question 3** (*durée conseillée 15 minutes*)

Représentez sous forme de schémas légendés les principales étapes de la réparation de l'ADN par excision.

**Question 4** (*durée conseillée 15 minutes*)

Les oligonucléotides ognt-1 et ognt-2 présentent la séquence indiquée ci dessous et sont différents au niveau des nucléotides grisés.

ognt-1 5'-GGAACTTGACCTTGACCTTAGGGCTGCAGGAATTCG-3'

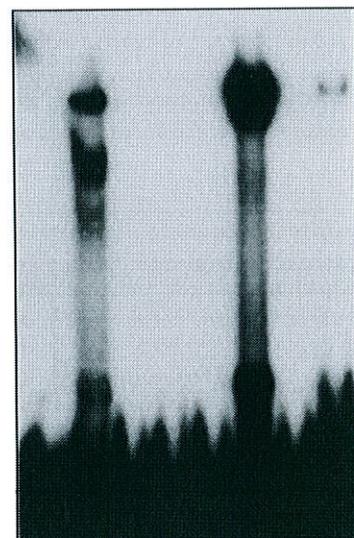
ognt-2 5'-GGAACTTGAACTTGAACTTAGGGCTGCAGGAATTCG-3'

Chaque oligonucléotide est marqué radioactivement à son extrémité 5' et mis à incuber en présence ou l'absence des protéines purifiées W3 et W4.

Après incubation, le mélange est analysé par électrophorèse sur gel d'acrylamide en conditions non dénaturantes. Le gel est ensuite séché puis autoradiographié.

- 1 - Quel est le nom et le but de cette expérience ?
- 2 - Analysez et interprétez le résultat obtenu montré ci contre.
- 3 - Proposez un rôle pour les protéines W3 et W4.

ognt-1	ognt-2	ognt-1	ognt-2
- W3	- W3	- W4	- W4



**Université Claude Bernard Lyon I - Licence ST - Mention Biologie**  
**UE « Régulations Physiologiques » L3 - EXAMEN TP/TD - Session 1 - janvier 2010**  
*durée 60 min - Calculatrices autorisées*

On dispose de 2 groupes de sujets de même âge (25-30 ans), de même taille et de même masse corporelle (non obèses) :

- un groupe de sujets normaux
- un groupe de sujets présentant une pathologie métabolique

Les sujets pathologiques sont traités depuis une dizaine d'années par des injections bi-quotidiennes d'insuline par voie intramusculaire.

Un test de tolérance au glucose est pratiqué sur ces 2 groupes de sujets. Le test consiste à administrer aux sujets 100 grammes de glucose par voie orale et à mesurer les variations du métabolisme par calorimétrie indirecte (oxydation du glucose et des lipides) et les variations des concentrations plasmatiques en glucose et en insuline toutes les 30 minutes pendant 3 heures (t = 30, 60, 90, 120, 150 et 180 minutes). Seule l'insuline endogène est dosée par une méthode spécifique chez tous les sujets. Le temps t = 0 correspond au moment de l'administration de glucose par voie orale. Il faut préciser que les sujets pathologiques n'ont pas interrompu leur traitement insulinique pour faire le test de tolérance au glucose et ont eu une injection d'insuline le matin 2 heures avant le test.

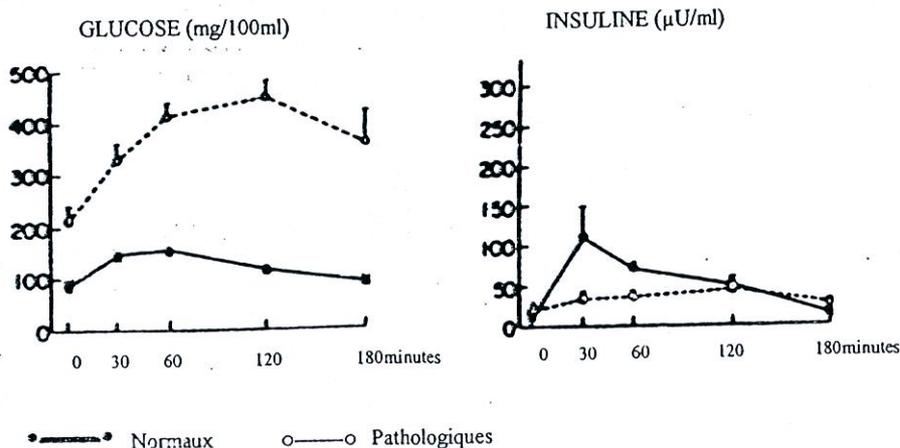
- 1) Commentez le graphe et le tableau des groupes de sujets normaux et pathologiques.
- 2) En apportant des arguments précis, à quel type de pathologie peut-on rapprocher la réponse des sujets pathologiques ?
- 3) Le traitement à l'insuline vous paraît-il totalement efficace ?
- 4) Peut-on dire qu'il existe un état d'insulino-résistance chez les sujets pathologiques ? Justifiez votre réponse.

Devenir du glucose dans l'organisme 3 heures après l'administration d'une charge orale de glucose (100g) chez des sujets normaux et des sujets pathologiques.

glucose ( g )	sujets normaux n=5	sujets pathologiques n=5
oxydé	26.0 ± 2.0	14.1 ± 1.4 *
stocké	74.0 ± 2.0	35.5 ± 7.8 *
restant dans l'espace glucose ( VG )	0	28.8 ± 4.9
excrété dans l'urine	0	21.6 ± 7.0
TOTAL	100g	100g

Comparaison statistique entre sujets normaux et sujets atteints d'une pathologie.  
 \* Statistiquement significatif au seuil P < 0.01 entre sujets pathologiques et sujets normaux.  
 Moyenne :  $\bar{x} \pm \text{SEM}$

Test de tolérance au glucose  
 100g de glucose sont administrés par voie orale



**Université Claude Bernard Lyon I**  
**Licence ST - Mention Biologie**  
**UE « Régulations Physiologiques » L3**  
**EXAMEN ECRIT - Session 1 - janvier 2010**

*durée 90 min*

*Calculatrices non autorisées*

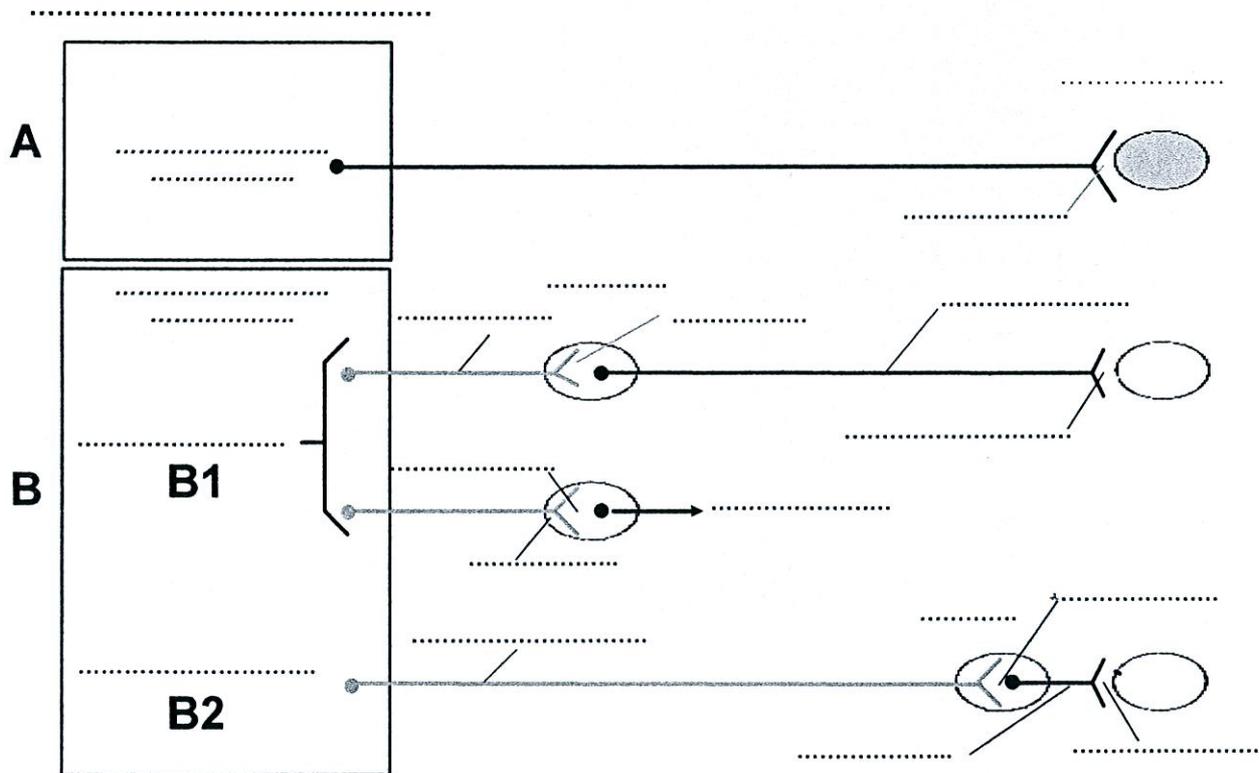
2 questions obligatoires à traiter sur des copies séparées

**Question 1 : Amor Belmeguenai (45 min)**

Compléter les schémas A et B directement sur l'énoncé (à rendre dans la copie d'examen avec n° d'anonymat complété)

Établir une organisation comparée entre les systèmes schématisés en :

- 1) A et B.
- 2) B1 et B2



**Titre :** .....

**Question 2 : Caroline Romestaing (45 min)**

Décrire les mécanismes impliqués dans les sécrétions endocrines du pancréas après ingestion de glucose (*aidez-vous de schémas*).

Au cours d'une analyse microbiologique biologique d'un prélèvement liquide, une culture pure de bactérie est isolée.

**Question 1 :** Comment a-t-on procédé pour isoler cette culture pure ? (réponse type protocole simplifié sous forme de schéma)

Après une observation microscopique des caractères morphologiques, les analyses portent sur la détermination du Gram de cette bactérie. Après la coloration, les bactéries apparaissent violettes au microscope.

**Question 2a :** Quelles caractéristiques des bactéries est il possible de déterminer à l'état frais (observation vitale) au microscope ?

**Question 2b :** Que pouvez vous déduire de ce résultat concernant la structure de cette bactérie ? (expliquez pourquoi la couleur violette)

**Question 3 :** Sous forme d'un schéma simple compréhensible et légendé vous comparerez les structures des parois Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>.

Cette bactérie est identifiée comme étant *Streptococcus mutans*. On la retrouve dans la flore buccale et dans ce que l'on appelle le biofilm de la plaque dentaire.

**Question 4 a:** Que savez-vous de la plaque dentaire?

**Question 4b :** Quels avantages procure l'organisation en biofilm à *S. mutans* dans l'habitat de la flore buccale ?

---

610 30304

**BI5518L3-Microbiologie et Immunologie**  
**Examen d'IMMUNOLOGIE- janvier 2010**

**Sujet de C. Delprat-Servet (durée : 1h30)**

**1. Questions de cours (10 points):**

- 1.1. Qu'est-ce que la cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps ou « ADCC »? (2 points).  
1.2. Expliquez pourquoi le déficit en protéine RAG1 ou RAG2 est à l'origine d'un phénotype d'immunodéficience combinée sévère ou « SCID » (4 points).  
1.3. Nommer et décrire deux mécanismes de réponse immunitaire innée : l'un contre des bactéries, l'autre contre des virus. (4 points).

**2. La réponse immunitaire anti-Mycobactérienne (10 points)**

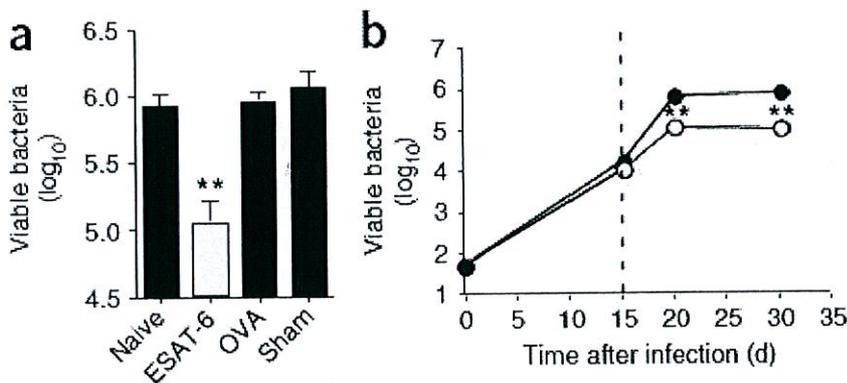
L'étude vise à comprendre comment protéger de l'infection pulmonaire par *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Les souris sont vaccinées avec un peptide antigénique restreint par I-Ab qui correspond aux acides aminés 1 à 20 d'une protéine de 6kDa, sécrétée par *Mtb* et appelée ESAT-6. L'adjuvant utilisé est appelé « Sham » et contient MPL+TDM+DDA : MPL (monophosphoryl lipid A) stimule le Toll-like récepteur 4 (TLR4), TDM (trehalose dicorynomycolate) stimule les voies de transduction MyD88 et DDA (diméthyl dioctadécylammonium bromide) est une petite molécule cationique qui adsorbe l'antigène et le libère peu à peu. Après vaccination, l'épreuve d'infection de la souris par *Mtb* est menée par voie aérosol.

2.1. Rappeler ce qu'est un adjuvant et commenter la composition de l'adjuvant utilisé en fonction de votre définition (2 points)

2.2. Commenter les figures a,b qui mesurent le nombre de *Mtb* vivantes dans les poumons après épreuve d'infection de souris soit naïves, soit vaccinées avec (i) le peptide d'ESAT-6+Sham (ESAT-6), (ii) un peptide d'ovalbumine d'œuf de poule+Sham (OVA), (iii) l'adjuvant seul (Sham). (2 points)

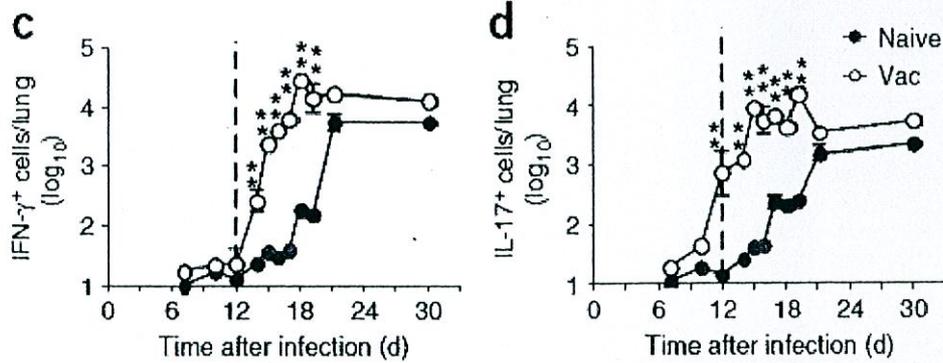
Figure a,b :

- Naive
- Vac

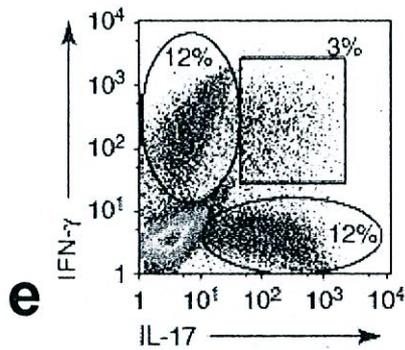


2.3. Commenter les figures c, d, e qui mesurent les productions de deux cytokines, l'interféron gamma et l'interleukine 17, par les lymphocytes T des souris soit naïves, soit vaccinées par ESAT-6+Sham. (3 points)

- Naive
- Vac



Dans la figure « e », l'analyse d'une souris vaccinée avec ESAT-6+Sham (représentative de 5 souris) est rapportée: un point représente un lymphocyte T.



2.3. Par ailleurs, les souris font des granulomes (accumulation massive de cellules du système immunitaire) autour de *Mtb* quand elles parviennent à survivre. Les chercheurs ont observé que les souris (vaccinées ou non), déficientes pour le récepteur de l'interféron gamma font bien des granulomes autour des bactéries mais ne contrôlent pas l'infection par *Mtb* et ne survivent pas, cependant que les souris déficientes pour le récepteur de l'interleukine-17 sont incapables de faire des granulomes et contrôlent très difficilement l'infection par rapport à des souris sauvages. Schématisez la réponse immunitaire contre *Mtb* réalisée dans la souris, en remplaçant le rôle des cytokines grâce aux informations apportées par ces expériences et à vos connaissances. (3 points).

**BI5518L3-Microbiologie et Immunologie**  
**Examen d'IMMUNOLOGIE- février 2010**

**Sujet de C. Delprat (durée : 1h)**

1. Expliquer le concept de récepteurs dangers (Pattern Recognition Receptor ou PRR) en illustrant avec un exemple (2 points).
2. Définir la recombinaison isotypique (ou switch ou commutation de classe) et schématiser une recombinaison isotypique de M vers E (2 points).
3. Décrire une expérience qui permet d'illustrer la restriction de l'activité des lymphocytes T par le complexe majeur d'histocompatibilité et expliquer l'origine moléculaire de cette restriction. (3 points)
4. Schématiser la phase d'initiation et la phase effectrice d'une réponse adaptative anti-virale (3 points)