

UL241

SESSION 2003

Filière : 2^{ème} concours – Concours F/S (Paris)

BIOLOGIE - BIOCHIMIE

(Epreuve commune aux ENS Ulm et Lyon)

Durée : 3 heures

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Tournez la page S.V.P.

Nous rappelons que les notations en italique indiquent un gène (ex: le gène *Clock*), ou un allèle de ce gène. Ainsi, la notation *Clock* *-/-* est utilisée pour le génotype d'un individu homozygote pour la mutation *Clock*. Le génotype d'un individu hétérozygote est noté *Clock* *-/+*. L'usage de lettres capitales est de règle pour écrire le nom d'une protéine (ex: CLOCK)

PARTIE A

QUESTION 1.

L'activité locomotrice du hamster présente des variations cycliques circadiennes, c'est à dire dont la période est d'environ 24 h. Au laboratoire, ces variations sont enregistrées grâce à une roue dans laquelle le rongeur peut courir. La roue est munie de capteurs connectés à un enregistreur. Les enregistrements sont présentés sous forme d'actogrammes, dont un exemple est donné par la Figure 1. Un tel dispositif permet donc de réaliser une mesure quantitative de l'influence de divers paramètres sur les rythmes locomoteurs circadiens.

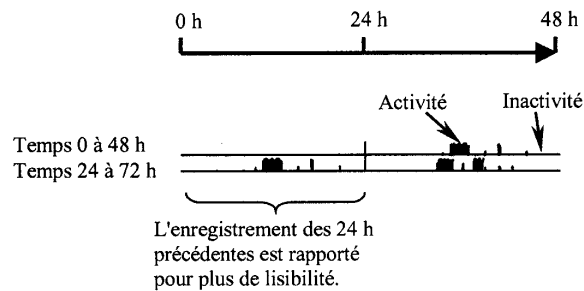


Figure 1 Exemple d'actogramme renseignant sur l'activité locomotrice d'un hamster sur une durée de 72h. Les lignes horizontales représentent le temps (elles ne sont pas visibles sur certains enregistrements), et la présence d'une marque verticale à un temps donné indique que le hamster était actif à ce moment.

La Figure 2, panneau A montre l'actogramme d'un hamster. Initialement, l'animal est soumis à une alternance de 14h de jour (générée par un éclairage électrique, rectangles blancs en haut de la figure) et 10h de nuit (rectangle noirs en haut de la figure). Au huitième jour, et pour le reste de l'expérience, l'animal est placé dans une obscurité constante (passage JN à NN, indiqué dans la marge droite de l'actogramme).

La Figure 2, panneau B est un actogramme typique d'un rongeur maintenu au laboratoire dans un rythme régulier d'alternance de jours et de nuits artificiels. Au 18ème jour de l'expérience, un changement radical est imposé à cette routine: la durée des jours et des nuits reste la même, mais la nuit débute à 15h.

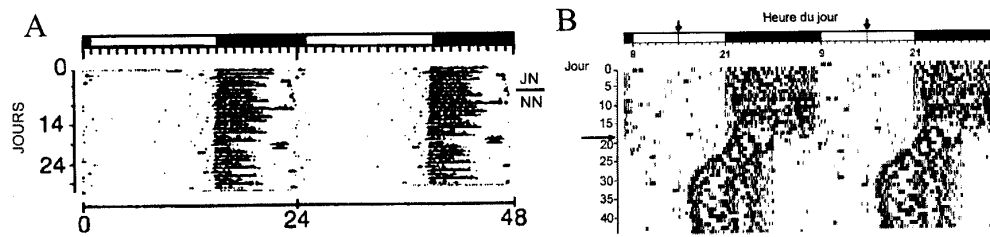


Figure 2: **A** Actogramme reportant l'activité locomotrice d'un hamster de type sauvage passant de conditions d'éclairage mimant l'alternance naturelle jour/nuit à une obscurité complète (passage de JN à NN, indiqué dans la marge droite de l'actogramme). **B** Actogramme d'un hamster soumis à un changement de cycle jour/nuit, indiqué par la flèche à gauche.

- Analysez les résultats.
- Quelle situation, que vous avez peut être vécue, l'expérience du panneau B rappelle-t-elle?

QUESTION 2.

La première mutation identifiée affectant le rythme circadien d'un mammifère est la mutation *tau* chez le hamster. Un croisement entre individus de type sauvage et individus mutants porteurs homozygotes de la mutation *tau* a été réalisé. Les variations circadiennes des rythmes locomoteurs des différents animaux, parents et descendants, ont ensuite été analysées comme décrit précédemment. La Figure 3 présente les résultats obtenus.

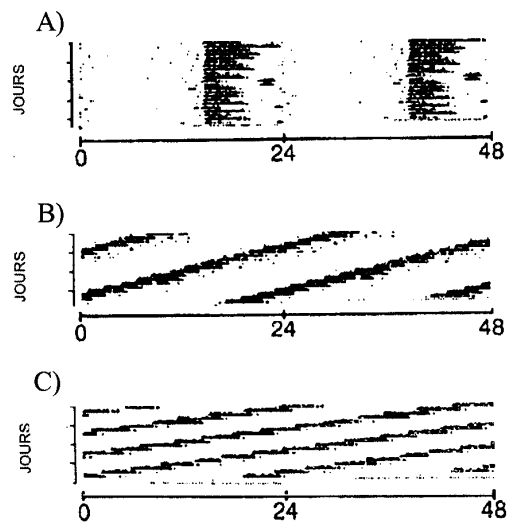


Figure 3. Actogrammes obtenus respectivement avec des individus de génotype sauvage (A) (vu à la question précédente), porteurs homozygotes de la mutation *tau* (C), et individus issus du croisement (B); dans tous les cas les animaux sont plongés dans une obscurité constante.

- Commentez cette figure.

QUESTION 3.

Les hamsters issus du croisement décrit précédemment ont été croisés entre eux. Parmi les animaux nés de ce nouveau croisement, 237 ont été choisis au hasard. La durée de la période circadienne de ces animaux a été mesurée comme précédemment. Les résultats sont donnés par la Figure 4.

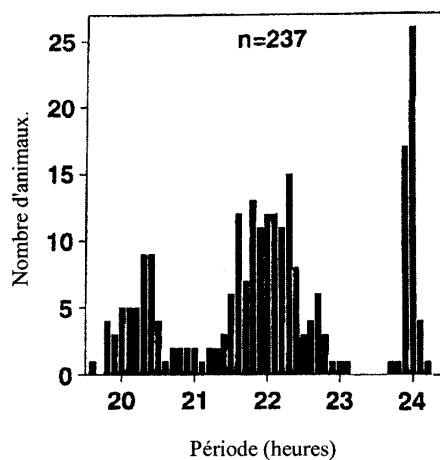


Figure 4. Distribution de la durée de la période circadienne parmi 237 individus issus du nouveau croisement.

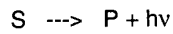
- Analysez cette distribution.
- Que conclure quant à la mutation *tau*?

QUESTION 4.

Au niveau cellulaire, l'existence de rythmes circadiens est mise en évidence, entre autres, par la variation cyclique de la quantité de certains ARN messagers et de certaines protéines. Par exemple, les produits du gène *Per1* chez les mammifères montrent une telle variation.

Afin d'étudier la variation circadienne de la transcription de *Per1* dans des cellules vivantes, des chercheurs ont cloné la région promotrice du gène devant le gène codant l'enzyme Luciférase. Cette construction, portée par un plasmide, sert ensuite à créer des animaux transgéniques. Les animaux transgéniques sont sacrifiés, des tissus sont immédiatement prélevés et placés dans un milieu de culture contenant le substrat de la luciférase. Le tout est placé dans un dispositif détecteur de lumière mesurant l'intensité de l'émission lumineuse issue de l'échantillon. En effet,

la réaction d'hydrolyse de certains substrats, dit luminogènes, catalysée par la luciférase s'accompagne d'une émission lumineuse:



Ce système a été utilisé pour étudier *in vitro* le rythme circadien de la transcription de *Per1* dans des neurones d'une région de l'hypothalamus appelée Noyaux Suprachiasmatiques (NSC), d'une part, et dans des cellules de foie en culture, d'autre part. Ces types cellulaires sont prélevés après sacrifice des animaux, ici des rats (des résultats identiques sont obtenus avec des souris). Le sacrifice a lieu au milieu du jour 1 de l'expérience. Les résultats sont présentés dans la Figure 5. Les résultats ne dépendent pas des conditions de culture (éclairage ou obscurité constante, ou alternance éclairage - obscurité).

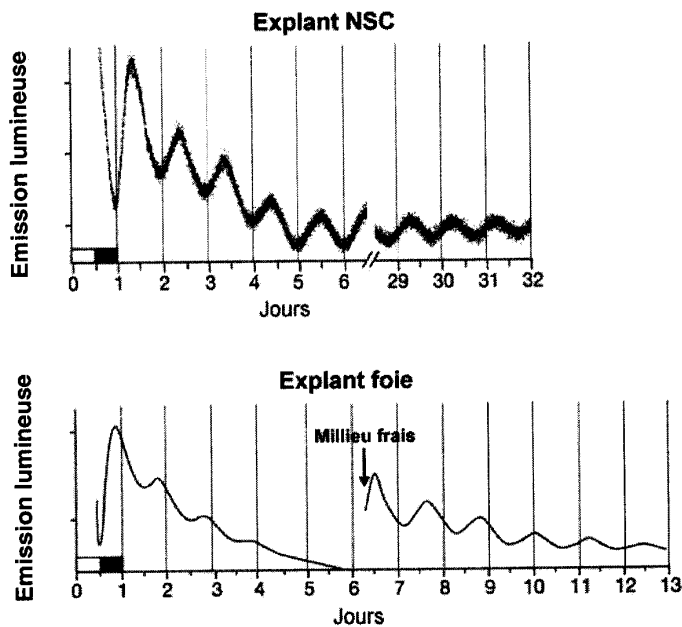


Figure 5 Evolution de l'intensité des émissions lumineuses au cours du temps dans des cellules de rats transgéniques en culture. Le graphique du haut rapporte les mesures réalisées sur des cellules nerveuses provenant des NSC, celui du bas, les mesures réalisées sur des cellules isolées à partir de foie. Dans les deux cas, les boîtes blanches et noires au jour 1 indiquent respectivement l'alternance de lumière et d'obscurité auxquelles les animaux étaient soumis les jours précédents le sacrifice. Au jour 6, du milieu de culture frais, contenant entre autres du sérum sanguin de veau, est ajouté à la culture de cellules hépatiques. Notez que les valeurs absolues des émissions lumineuses ne peuvent pas, pour des raisons expérimentales, être comparées entre les différents types cellulaires.

- Commentez les résultats.

QUESTION 5.

Un hamster porteur de la mutation *tau* est maintenu dans l'obscurité et son rythme circadien locomoteur est mesuré pendant 96 heures. Les Noyaux Suprachiasmatiques du hamster sont ensuite chirurgicalement lésés, et le rythme du hamster est à nouveau enregistré. Au 38ème jour de l'expérience, un hamster de type sauvage, lui aussi maintenu dans l'obscurité, est sacrifié et ses NSC sont prélevés. Les NSC sont placés dans une capsule dont les parois ne laissent pas passer les axones et les dendrites. Cette capsule est ensuite greffée dans l'hypothalamus du hamster porteur de la lésion des NSC. Le rythme circadien locomoteur est à nouveau mesuré dans l'obscurité. Les résultats de cette expérience sont rapportés par la Figure 6. En plus des actogrammes, cette figure présente des analyses informatiques des actogrammes. Ces analyses informatiques permettent de déterminer les valeurs des périodes circadiennes des animaux.

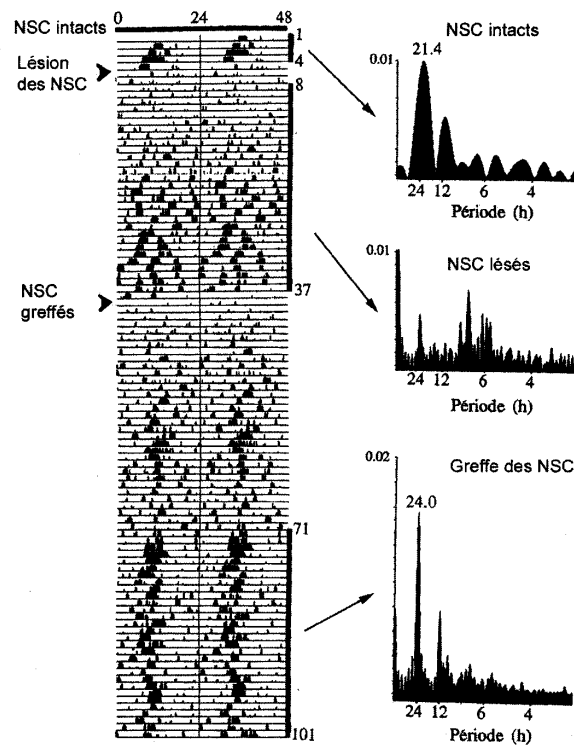


Figure 6 A gauche, actogramme du hamster sujet de l'expérience. A droite, mesures des périodes réalisées sur l'actogramme à différents stade de l'expérience. Les jours inclus dans ces analyses sont indiqués par des barres verticales à la droite de l'actogramme. Les chiffres sur les spectres donnent la valeur de la période circadienne exprimée en heures.

- 1. Quels renseignements donne cette expérience?
- 2. Pourquoi les auteurs ont ils utilisé des animaux porteurs de la mutation *tau* comme receveurs de greffe plutôt que des animaux de type sauvage?

QUESTION 6.

Le gène atteint par la mutation *tau* a été identifié et séquencé en 1996. Il code pour une enzyme appelée CKIε. Pour caractériser la fonction de ce gène et l'effet de la mutation sur cette fonction, les protéines sauvages et mutantes sont indépendamment produites dans la bactérie *Escherichia coli*, puis purifiées à homogénéité. Des quantités identiques de protéines sauvages et mutantes sont séparément incubées avec de l'ATP marqué par du phosphore radioactif en position gamma (γ [³²P]ATP) et de l'α-caséine, une protéine substrat de CKIε. Après incubation, les protéines sont analysées par électrophorèse en gel de polyacrylamide en utilisant une détection par autoradiographie. Les résultats sont schématisés dans la Figure 7, panneau A.

Dans une autre série de tests, les différentes protéines après incubation avec du γ [³²P]ATP, sont traitées ou non par la phosphatase PP2B puis séparées par électrophorèse. Les protéines sont détectées par la technique de western blot en utilisant des anticorps dirigés soit contre la partie N-terminale, soit contre la partie C-terminale de CKIε. Les résultats sont schématisés dans la Figure 7, panneau B.

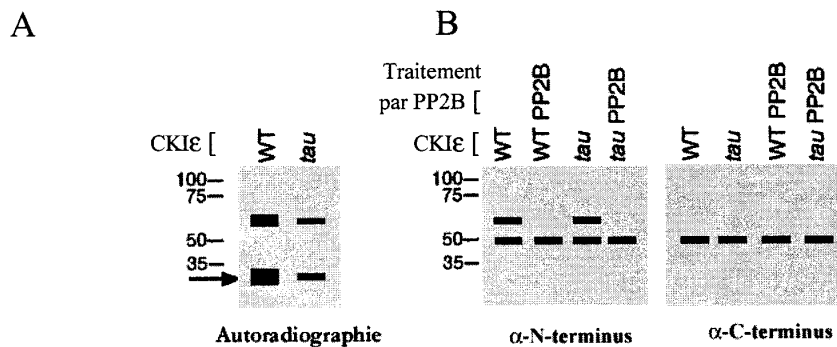


Figure 7 : A, Autoradiographie et B, détection par western blot après séparation par électrophorèse, des produits obtenus après incubation de l'enzyme sauvage (WT) ou mutante (*tau*) avec de la α-caséine, en présence de γ [³²P]ATP. En A, la flèche indique la position de l'α-caséine. En B, l'anticorps anti-CKIε utilisé est indiqué au bas de la figure. La mention PP2B indique un traitement par la phosphatase PP2B, une enzyme hydrolysant les liaisons phosphoesters, juste avant le dépôt sur gel.

1. Donnez la structure de l'ATP radiomarqué en précisant la position de l'atome radioactif.
2. Quelle activité enzymatique est détectée par une telle expérience ?
3. Quels données ont poussé les scientifiques à rechercher spécifiquement cette activité ?
4. Les substrats protéiques de cette enzyme sont modifiés au niveau des chaînes latérales porteuses de groupes hydroxyles. Nommez et donnez la structure des acides aminés correspondants.
5. Quels renseignements apportent ces expériences?

QUESTION 7.

Les protéines CKI ϵ sauvages et mutantes sont séparément incubées en présence de $\gamma^{32}\text{P}$ ATP et de différentes concentrations de caséine. Pour chaque concentration de caséine, la vitesse de la réaction catalysée est déterminée pour les deux protéines en mesurant l'apparition de caséine radioactive. Les résultats sont représentés graphiquement par la Figure 8.

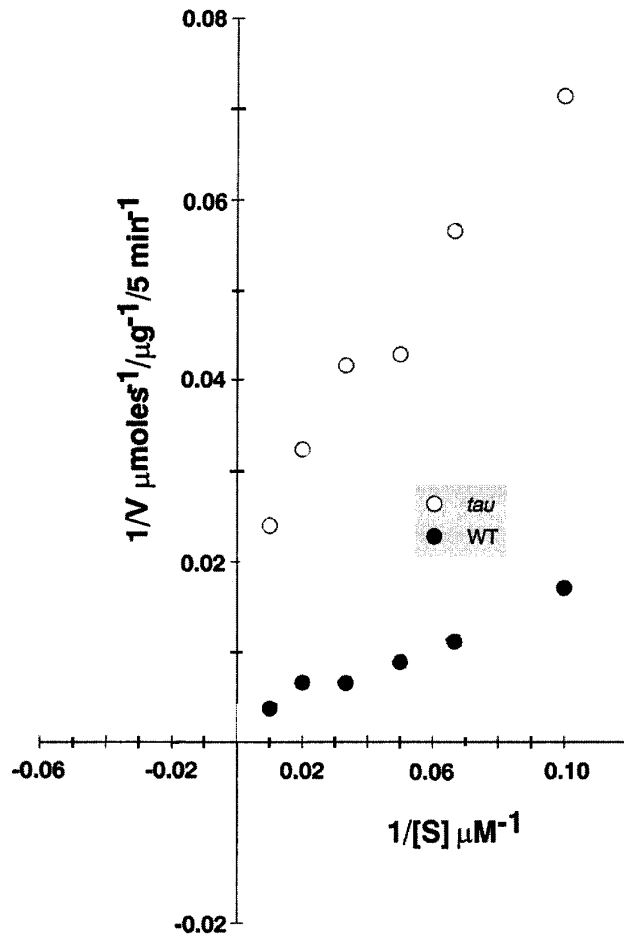


Figure 8 Graphique de la vitesse de catalyse en fonction de la concentration en substrat, pour les protéines sauvages et mutantes. La représentation graphique est de type double inverse, et les mesures sont réalisées en condition de "vitesse initiale". WT signifie "wild type", le type sauvage.

- 1. Vous déterminerez d'après le graphe les vitesses maximales de catalyse V_m et les K_m des enzymes sauvages et mutées.
- 2. Quels sont les effets de la mutation *tau* sur la fonction de CKI ϵ , dans ces conditions expérimentales ?

PARTIE B

QUESTION 8.

La protéine CLOCK chez la souris contient un domaine basique Hélice-Boucle-Hélice capable de lier l'ADN, un domaine PAS, connu dans d'autres protéines pour être médiateur d'homo- ou d'hétéro-dimérisation, et un domaine d'activation de la transcription.

On dispose au laboratoire de souris porteuses d'une mutation dans le gène *Clock*.

Des souris portant 3 copies d'un transgène incluant le gène *Clock* sauvage ont été créées, et leur période circadienne mesurée en obscurité constante en utilisant le dispositif à roue. Les résultats sont synthétisés dans la Figure 9. La figure présente aussi les résultats obtenus avec des souris contrôles non-transgéniques.

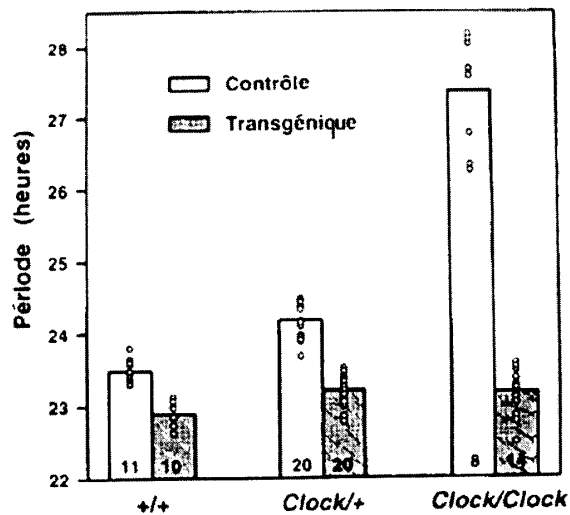


Figure 9 Effet d'un transgène portant le gène *Clock* sur la période de souris de différents génotypes. Les génotypes sont indiqués au bas de la figure. Le nombre d'individus testés est indiqué dans chaque colonne.

D'autre part, une analyse génétique de la mutation *Clock* a révélé les points suivants. Une souris de génotype *Clock* - / W^{19H} a un phénotype plus sévère qu'une souris *Clock* - / +, mais moins sévère que celui d'une souris *Clock* - / -. W^{19H} est une délétion qui affecte le chromosome 5 de la souris et entraîne la perte du gène *Clock*.

- Commentez ces informations. Qu'indiquent elles quant à la nature de la mutation *Clock*?

QUESTION 9.

Chez les eucaryotes, l'activation de la transcription d'un gène passe par le recrutement au niveau du promoteur de ce gène, d'un complexe permettant la mise en place de l'ARN polymérase. Les activateurs transcriptionnels sont des protéines présentant souvent deux domaines bien distincts:

- Un domaine de liaison à l'ADN, capable de se lier spécifiquement à une séquence précise du promoteur.
- Un domaine activateur qui facilite le recrutement de l'ARN polymérase.

Ceci a été mis à profit, dans un test dit test 2-hybrides, pour tester des interactions entre 2 protéines X et Y, chacune étant fusionnée soit à un domaine de liaison à l'ADN, soit à un domaine activateur (cf. Figure 10). Si X et Y interagissent physiquement, alors le domaine d'activation de la transcription fera démarrer la transcription du gène de la *β-galactosidase*. Un test simple permet ensuite de détecter l'activité de la *β-galactosidase*.

En pratique le test est souvent mené dans la levure en utilisant le domaine de liaison à l'ADN d'un facteur appelé LEXA et le domaine d'activation d'un facteur appelé VP16 pour construire les protéines de fusion.

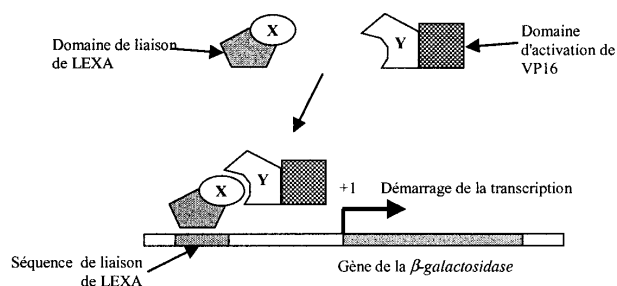


Figure 10 Schéma de principe du 2-hybrides pour tester les interactions entre deux protéines.

Des protéines capables de former un dimère avec CLOCK, via son domaine PAS, ont été recherchées par le test 2-hybrides. Dans la Figure 10, X désigne donc la protéine CLOCK, et Y un interacteur potentiel. Les résultats de tests avec des interacteurs potentiels sont donnés dans le Tableau 1. CLOCK Δ 19 est un mutant de CLOCK auquel il manque 51 acides aminés. C'est la protéine produite par les souris mutantes *Clock* utilisées dans la question précédente.

Interacteur testé	Activité B-galactosidase
VP16	-
VP16-CLOCK	-
VP16-BMAL1	+
VP16-CLOCK Δ 19	-

Tableau 1: Résultats de tests avec des interacteurs potentiels de CLOCK.

Le Tableau 2 donne le résultat de tests menés cette fois pour identifier des protéines capables de s'associer à CLOCK Δ 19.

Interacteur testé	Activité B-galactosidase
VP16	-
VP16-CLOCK	-
VP16-BMAL1	+
VP16-CLOCK Δ 19	-

Tableau 2: Résultats de tests avec LEXA-CLOCK Δ 19 et des interacteurs potentiels.

- Commentez les résultats

QUESTION 10.

Le système 1-hybride est une variation du système 2-hybrides qui permet de tester la capacité d'un facteur de transcription potentiel à se lier, seul ou avec un partenaire, à la région régulatrice de gènes potentiellement cibles de ce facteur. Le système 1-hybride a été utilisé pour étudier la capacité de CLOCK et CLOCK Δ 19 à lier le promoteur du gène *Per1*. Le résultat du test est donné dans le Tableau 3.

Facteur testé	Partenaire présent	
	VP16	BMAL1-VP16
CLOCK	-	+
CLOCK Δ 19	-	+

Tableau 3: Liaison du promoteur du gène *Per1* par CLOCK et CLOCK Δ 19. + : activation du gène rapporteur, - : absence d'activation du gène rapporteur.

Le système expérimental basé sur l'emploi de la luciférase, utilisé pour la Figure 5, a de nouveau été utilisé. Cette fois, le taux de transcription de *Per1* est mesuré dans des cellules en culture transfectées par des combinaisons de 3 différents plasmides. Un des plasmides porte le gène *Clock* sauvage, le second plasmide porte le gène mutant *Clock- Δ 19* et le troisième le gène *Bmal1* sauvage. Ces plasmides permettent d'exprimer fortement et de manière continue les gènes qu'ils portent. Les résultats de ces expériences sont donnés par la Figure 11.

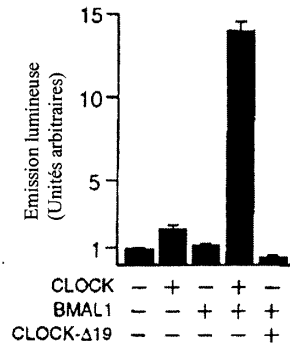


Figure 11 Effets de *Clock*, *Clock-Δ19* et *Bmal1* sur l'activité du promoteur de *Per1*.

- Que pouvez vous préciser désormais quant au type de lésion qui affecte la protéine CLOCK dans un mutant *Clock* ?
- Par ailleurs, qu'indiquent ces expériences ?
- Quelles réserves pouvez-vous émettre sur la validité de ces résultats ?

QUESTION 11.

Des expériences du même type sont réalisées. Cette fois, les cellules sont transfectées avec des combinaisons de plasmides portant les gènes *Clock*, *Bmal1*, *Per1*, *Cry1* ou *Cry2*. Les gènes *Cry* chez la souris ont un pourcentage d'identité de séquence élevé avec certains gènes de la mouche *Drosophila melanogaster*, impliqués dans la régulation des rythmes circadiens de ce dernier organisme. Les résultats sont présentés par la Figure 12.

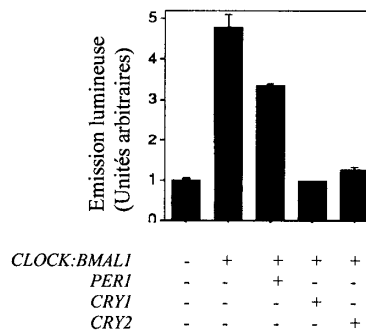


Figure 12 Activité du promoteur de *Per1* dans des cellules transfectées soit avec un vecteur vide (contrôle négatif), soit les mêmes vecteurs contenant le gène codant pour PER1 ou pour CRY1 ou pour CRY2. Les cellules sont de plus transfectées avec des vecteurs permettant l'expression de CLOCK et BMAL1, sauf dans le contrôle.

Le niveau d'expression des gènes *Bmal1*, *Clock*, *Cry1* et *Cry2* a été mesuré dans les NSC de souris normales ou mutantes *Clock/Clock* par hybridation *in situ* et densitométrie. Les souris étaient initialement maintenues dans une alternance de jours de 12 h et de nuits de 12 h. A la fin

de leur dernière nuit (t=0 de l'expérience) les souris sont placées dans l'obscurité pour des temps variables avant leur sacrifice. Les résultats des mesures densitométriques sont donnés en Figure 13.

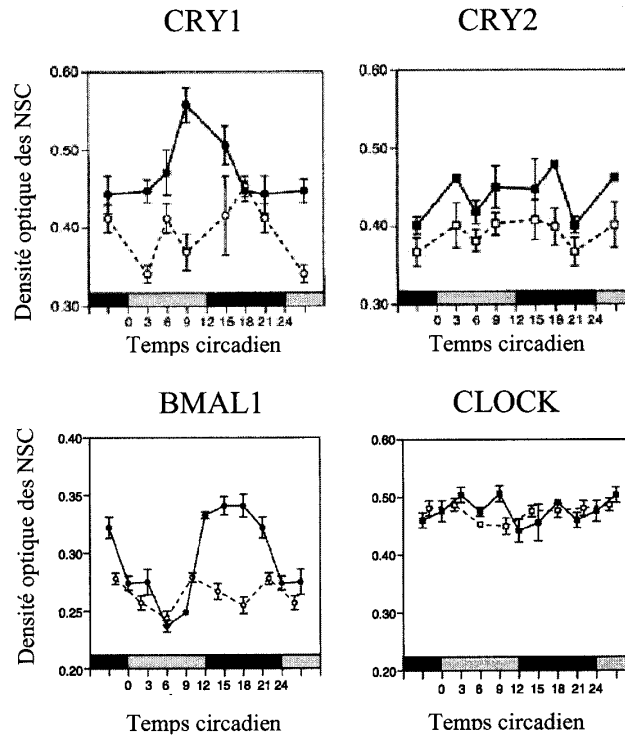


Figure 13 Expression de *Cry1*, *Cry2*, *Bmal1* et *Clock* dans les NSC. En trait plein, valeurs chez les souris sauvages, en pointillés, valeurs chez les mutants *Clock/Clock*. Les mesures sont répétées plusieurs fois pour chaque point et l'écart type sur les mesures est donné par les barres d'erreur.

- Que montrent ces expériences ?

QUESTION 12.

Un type de séquence d'ADN appelé E-Box est trouvé dans les régions promotrices des gènes *Per1* et *2*, et *Cry1* et *2*. Une mutation dans ces séquences se traduit par une forte diminution de l'effet activateur de CLOCK et BMAL1 sur la transcription des gènes *Per1* et *2*, et *Cry1* et *2*. Il semble que la région promotrice de *Bmal1* ne contienne pas de séquences de type E-Box.

- Quelles hypothèses pouvez vous formuler pour expliquer l'effet de la mutation *Clock* sur l'expression des gènes *Cry* et *Per* d'une part et de *Bmal1* d'autre part ?

QUESTION 13.

La protéine REV-ERB α est un facteur liant l'ADN appartenant à la classe des récepteurs nucléaires. L'accumulation de cette protéine dans le foie de souris sauvages a été mesurée au cours de la journée par western-blot. Le résultat est donné en Figure 14.

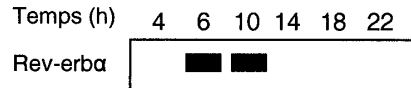


Figure 14 Mesure, par western-blot, de l'accumulation de REV-ERB α au cours du temps dans le foie de souris sauvages.

Les deux copies du gène *Rev-erb α* ont été expérimentalement détruites dans une lignée de souris transgéniques (souris *Rev-erb α -/-*). Des extraits nucléaires ont été préparés à partir de cellules de foie de souris sauvages et mutantes, à différents moments de la journée. Ces extraits ont été incubés avec un fragment d'ADN provenant de la région promotrice du gène *Bmal1*. Ce fragment, appelé sonde, est radiomarqué.

Après incubation, la solution est soumise à une électrophorèse en gel de polyacrylamide dans des conditions dites non-dénaturantes, ce qui signifie que les complexes macromoléculaires migrent dans le gel sans être disloqués. Au bout d'un certain temps de migration, le gel est autoradiographié. La Figure 15 montre les résultats de cette expérience, dite "de retard sur gel". Notons que si après incubation les échantillons sont déprotéinisés par traitement au phénol, seule la bande correspondant à la sonde subsiste.

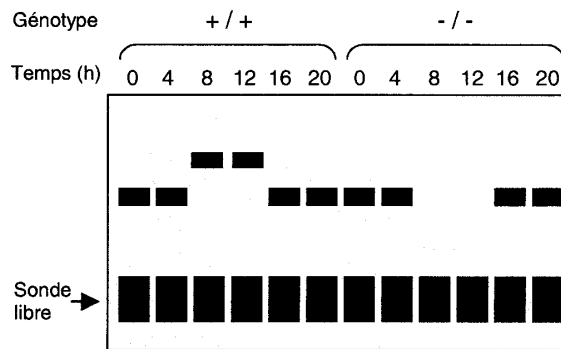


Figure 15 Expérience de retard sur gel. Les 6 premiers couloirs du gel correspondent à des extraits nucléaires de cellules de foie de souris sauvages, et les 6 derniers, à des extraits de foie de souris mutantes *Rev-erb α -/-*. Le temps indique le moment de la journée auquel l'extrait correspondant est préparé.

- Que suggère ces données?

QUESTION 14.

Toujours à partir des cellules de foie utilisées précédemment pour la préparation des extraits nucléaires, les ARN sont extraits. Ces ARN sont séparés par électrophorèse. Les ARN messagers du gène *Bmal1* et les ARN ribosomiques 18S sont ensuite visualisés par la technique de transfert de Northern. Les résultats sont présentés Figure 16.

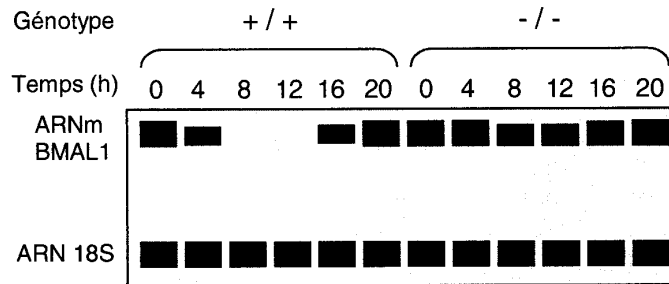


Figure 16 Détections des ARNm du gène *Bmal1* et des ARN ribosomiques 18S par transfert de Northern. Le temps indique le moment de la journée auquel l'extrait correspondant est préparé.

D'autre part, il semble que la transcription de *Rev-erba* soit très semblable, par ses modalités temporelles et par les protéines intervenant dans sa régulation, à celles des gènes *Cry1* et *Per1*.

- Vous décrirez les étapes essentielles de la technique de Northern.
- Quelles informations la détection des ARN 18S apporte-t-elle ?
- Qu'indiquent ces résultats ?

QUESTION 15.

- Comparez attentivement les résultats de la Figure 16 avec les résultats présentés précédemment, notamment dans la Figure 13. Quelles hypothèses ayant trait à la régulation des rythmes circadiens dans un organisme pouvez vous émettre pour expliquer vos observations ?

QUESTION 16.

Pour préciser le rôle des gènes *Per2* d'une part et *Cry1* et *Cry2* d'autre part, des souris de génotype *Per2* $-/-$ et de génotype double mutant *Cry1* $-/-$ *Cry2* $-/-$ ont été créées par transgénèse. Comme précédemment, l'hybridation *in situ* et la densitométrie ont été utilisées pour mesurer l'effet de ces mutations sur l'expression de différents gènes. Les résultats sont donnés Figure 17.

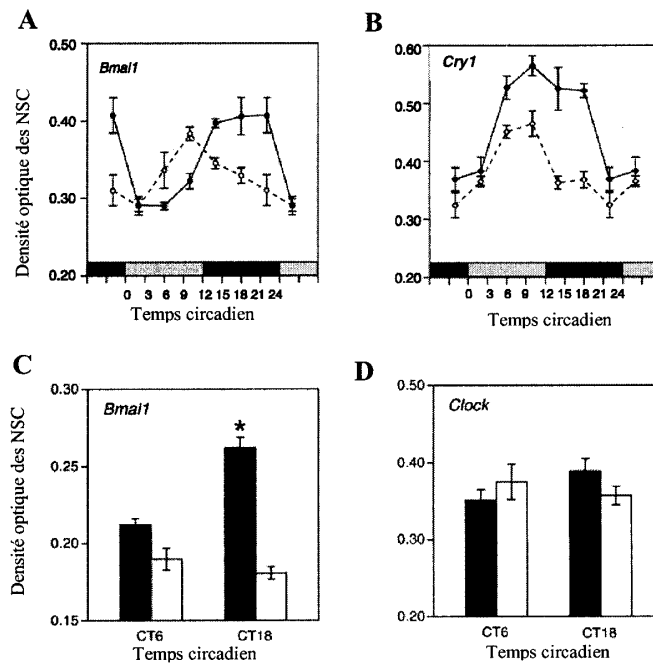


Figure 17 A et B : Effets de la destruction du gène *Per2* sur l'accumulation des ARNm de *Bmal1* (A) et de *Cry1* (B); en trait plein, souris de génotype sauvage, en pointillés, souris mutantes. C et D : Effets de la destruction de *Cry1* et *Cry2* sur l'accumulation des ARNm de *Bmal1* (C) et *Clock* (D); les mesures sont réalisées au temps circadiens 6 et 18 (CT6 et CT18 sur les figures); en noir, souris de type sauvage, en blanc, souris mutantes. Une différence d'expression significative entre les deux génotype est indiquée par un astérisque.

- Que montrent ces expériences ?

QUESTION 17.

Une analyse des activités locomotrices de souris porteuses de différentes combinaisons d'allèles de *Cry1* et *Cry2* a montré les faits suivants:

- La période d'une souris *Cry1* *-/-* est légèrement plus courte que celle d'une souris de type sauvage elle même plus courte que celle d'un souris *Cry2* *-/-*.
- Les doubles mutants *Cry1* *-/-* *Cry2* *-/-* sont complètement arythmiques lorsqu'ils sont plongés dans l'obscurité, mais ils ont un rythme normal dans un régime d'alternance jour/nuit..
- La présence d'un seul allèle sauvage parmi quatre (deux *Cry1* et deux *Cry2*) est suffisante pour qu'une souris présente une rythmicité locomotrice après passage dans l'obscurité prolongée.

- Qu'indiquent ces observations ?

QUESTION 18.

Outre le niveau d'expression d'un gène, il est possible de mesurer l'accumulation de la protéine correspondante en utilisant des techniques d'immunocytochimie. La Figure 18 montre le niveau d'expression des gènes *Per2* et *Cry1* dans les NSC et le nombre de noyaux cellulaires dans les NSC dans lesquels les protéines respectives sont détectées. Les expériences sont réalisées chez des souris de génotype sauvage et des individus de génotype *Per1* $-/-$.

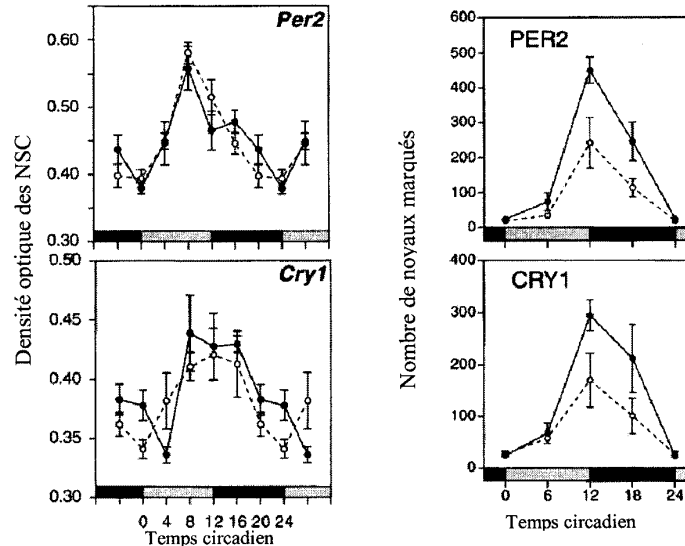


Figure 18 Accumulation des transcrits de *Per2* et *Cry1*, mesurée par hybridation *in situ* (graphiques de gauche) et nombre de noyaux cellulaires positifs pour la présence de PER2 ou CRY1, mesuré par immunocytochimie (graphiques de droite) dans les NSC de souris sauvages (traits pleins) ou des souris dont les deux copies du gène *Per1* ont été détruites (pointillés).

D'autre part, chez des souris sauvages, les ARNm et protéines codés par *Per1* ont le même profil d'accumulation que ceux codés par *Per2*.

- Quelles informations nouvelles sur le rôle de *Per1* cette figure apporte-t-elle?

PARTIE C

QUESTION 19.

La rôle joué par CKIe dans les rythmes circadiens n'est pas à ce jour complètement compris. L'enzyme agit sur de nombreuses protéines et il est difficile d'identifier clairement les conséquences de ces modifications. Parmi diverses hypothèses, il a été suggéré que la modification des protéines PER et CRY change leur stabilité. Une autre hypothèse propose que la modification des protéines PER et CRY par CKIe change leur cinétique d'importation dans le noyau.

- Nous supposons que CK1 ϵ joue le même rôle chez tous les mammifères. Selon vous, sous l'action de l'enzyme, la stabilité des protéines PER et CRY d'une part et leur cinétique d'importation dans le noyau d'autre part augmentent-elles ou diminuent-elles?

QUESTION 20.

- Synthétisez, sous la forme de schémas, l'ensemble des résultats obtenus, en essayant d'en tirer un modèle pour expliquer la génération du rythme circadien dans une cellule et un organisme. Vous commenterez ce modèle.
- Quel est selon vous, le phénotype d'une souris mutante pour le gène *Bmal1*?