

ÉCOLES NORMALES SUPÉRIEURES
ÉCOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSÉES

CONCOURS D'ADMISSION SESSION 2020

FILIÈRE BCPST
COMPOSITION DE BIOLOGIE

Épreuve commune aux ENS Lyon, Paris, Paris-Saclay et à l'ENPC

Durée : 6 heures

L'utilisation des calculatrices n'est pas autorisée pour cette épreuve.

Le sujet comporte 18 pages.

Thème de l'épreuve : **LES DIVISIONS CELLULAIRES**

L'épreuve est constituée de **trois parties indépendantes**.

Celles-ci peuvent donc être abordées dans l'ordre de votre choix mais doivent toutes être traitées. Pour ce faire, le temps à consacrer à chacune des parties est conseillé ci-dessous.

Thème	Durée conseillée
Partie A Sujet de synthèse – Les divisions cellulaires	2h
Partie B Etude de documents – Point de contrôle de la position du fuseau mitotique	2h
Partie C Etude de documents – Recombinaisons génétiques au cours de la méiose	2h

Le sujet comporte 18 pages.

Lors de l'évaluation, les correcteurs et correctrices attacheront une importance particulière à :

- la justification des raisonnements
- la clarté et la concision des réponses
- la qualité et la précision des illustrations
- l'orthographe, la grammaire, la syntaxe et la présentation

Les expériences présentées dans les parties B et C ont été reproduites plusieurs fois : on représente par des graphiques la moyenne des résultats, les barres d'erreur représentant l'écart-type. Les images et données brutes sont représentatives de l'ensemble des résultats obtenus.

DEBUT DU SUJET

—

PARTIE A – Sujet de synthèse

Les divisions cellulaires

PARTIE B - Point de contrôle de la position du fuseau mitotique

Toute remarque critique justifiée à propos des protocoles ou des figures présentés sera valorisée.

La levure *Saccharomyces cerevisiae* se divise par bourgeonnement. Il s'agit d'une division asymétrique : les deux cellules filles sont génétiquement identiques mais de taille différente (figure 1A). Le transfert de la moitié du matériel génétique dans le bourgeon est permis par l'orientation du fuseau mitotique selon l'axe cellule mère-bourgeon (figure 1).

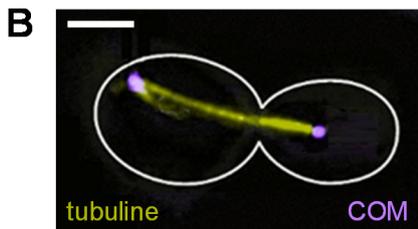
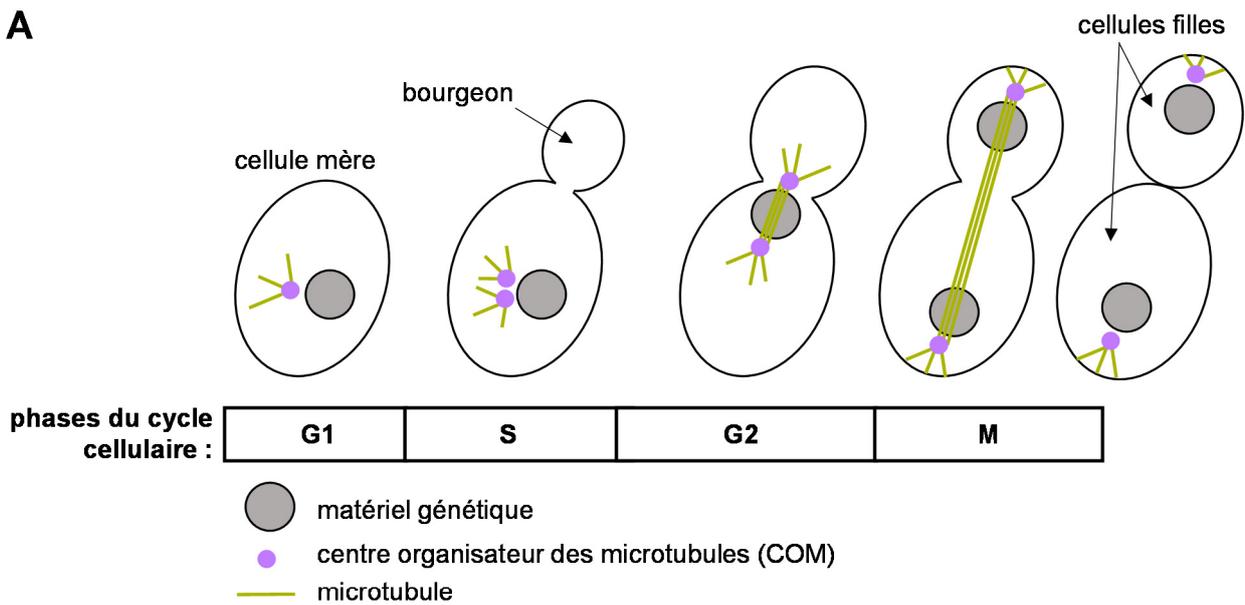


Figure 1. **A.** Déroulement schématique du cycle cellulaire chez *S. cerevisiae*. **B.** Détection par immunofluorescence du fuseau mitotique (tubuline) et des centres organisateurs des microtubules (COM) dans une cellule en anaphase ; le contour cellulaire est indiqué en blanc ; barre d'échelle : 2 μ m.

L'organisation du fuseau mitotique est contrôlée par des protéines associées aux microtubules (comme la dynéine 1). Au cours de cette étude, **on s'intéresse aux processus régulateurs mis en jeu lors d'une mauvaise orientation du fuseau**. Expérimentalement, on favorise donc ce défaut d'orientation grâce à une souche de levure chez laquelle on a supprimé l'expression de la dynéine 1.

C'est dans ce cadre qu'on étudie une protéine clé, Kin4, pour laquelle on dispose de trois souches (tableau 1).

Tableau 1

Souche	Caractéristiques
WT	Sauvage
<i>kin4</i> Δ	Gène <i>kin4</i> supprimé
<i>dyn1</i> Δ <i>kin4</i> Δ	Gènes <i>dyn1</i> et <i>kin4</i> supprimés
Gal-KIN4	Surexpression de <i>kin4</i> en présence de galactose

Des cellules WT ou mutées sont cultivées sans que leur cycle cellulaire ne soit synchronisé. A un temps quelconque, on répertorie pour chaque cellule la localisation de son matériel génétique et de son éventuel fuseau mitotique. On peut ainsi distinguer cinq principaux types d'organisation, que l'on classe en trois phénotypes appelés A (regroupant 3 types d'organisation), B et C (figure 2A). On quantifie la proportion de cellules présentant chacun de ces trois phénotypes (figure 2B) et on analyse la durée de leur anaphase (figure 2C).

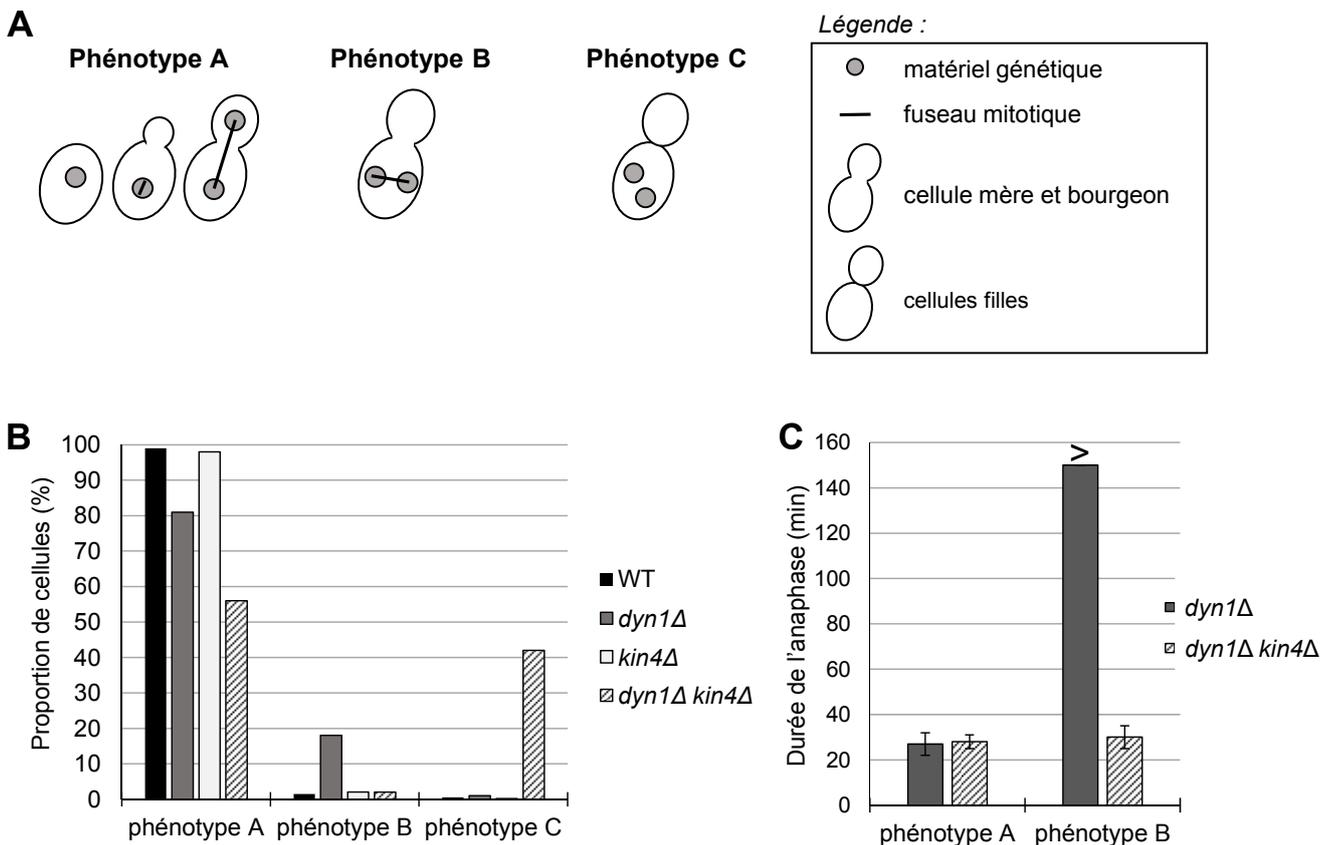


Figure 2. A. Schéma des trois phénotypes observés, définis par la position du matériel génétique et du fuseau mitotique. **B.** Proportion de cellules de souche WT, *dyn1*Δ, *kin4*Δ ou *dyn1*Δ *kin4*Δ présentant chacun de ces trois phénotypes. **C.** Durée de l'anaphase chez 30 cellules de phénotype A ou B, de souche *dyn1*Δ ou *dyn1*Δ *kin4*Δ. Le signe > indique qu'à l'issue des 150 min d'enregistrement, l'anaphase n'était terminée pour aucune des cellules analysées.

Q1) a. D'après les figures 1 et 2A, comment qualifieriez-vous le phénotype A ? Proposez un lien entre le phénotype B et le phénotype C.

b. Analysez et interprétez les résultats des figures 2B et 2C.

c. Proposez une condition expérimentale complétant les données de la figure 2C. Quelle information apporterait-elle ?

La figure 3 compare la souche Gal-KIN4 (définie tableau 1) à la souche WT.

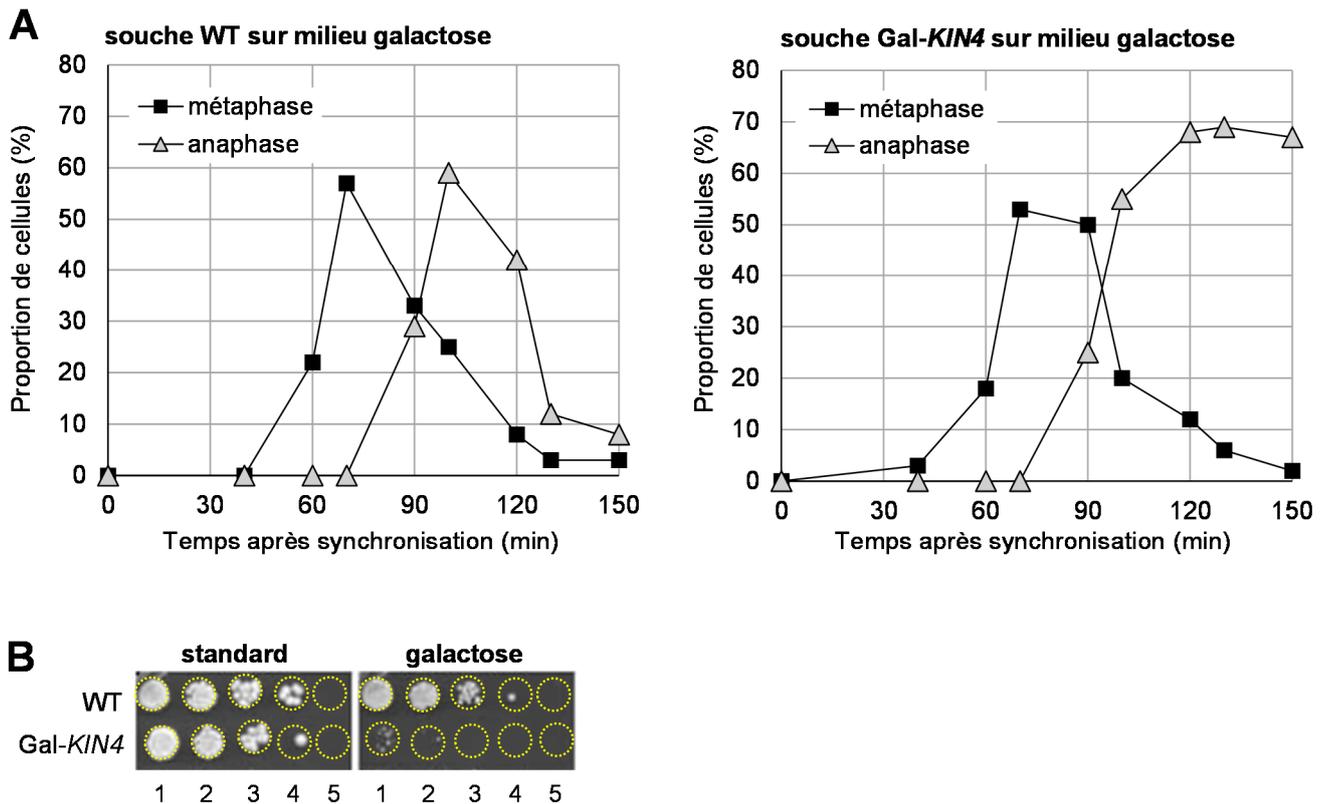


Figure 3. A. Proportion de cellules de souche WT ou Gal-KIN4 en métaphase ou en anaphase lors d'une culture en présence de galactose ; la division des cellules est synchronisée et débute au temps $t = 0$.

B. Colonies obtenues après culture des souches WT et Gal-KIN4 pendant 48h sur un milieu solide standard ou supplémenté en galactose ; un ensemencement identique de cinq dilutions en série (numérotées de 1 à 5) a été effectué pour chaque souche et son contour est délimité par des pointillés jaunes ; les colonies apparaissent blanches sur fond noir.

Q2) a. Analysez et interprétez la figure 3.

b. Proposez, en la justifiant, une condition expérimentale complétant les données de la figure 3A.

c. D'après les figures 2 et 3, concluez quant au rôle et à l'importance de la protéine Kin4.

La terminaison de l'anaphase requiert l'activation de la protéine Tem1. Cette protéine est active sous forme Tem1-GTP (interaction avec une molécule de GTP). Elle possède une activité GTPase, et se convertit donc spontanément en Tem1-GDP inactive.

On soupçonne la protéine Bfa1 de contrôler la terminaison de la mitose. On teste *in vitro* son effet sur Tem1 (figure 4) : on préincube ainsi Tem1 avec du $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$ puis on mesure la radioactivité associée à la protéine à différents temps après ajout ou non de Bfa1.

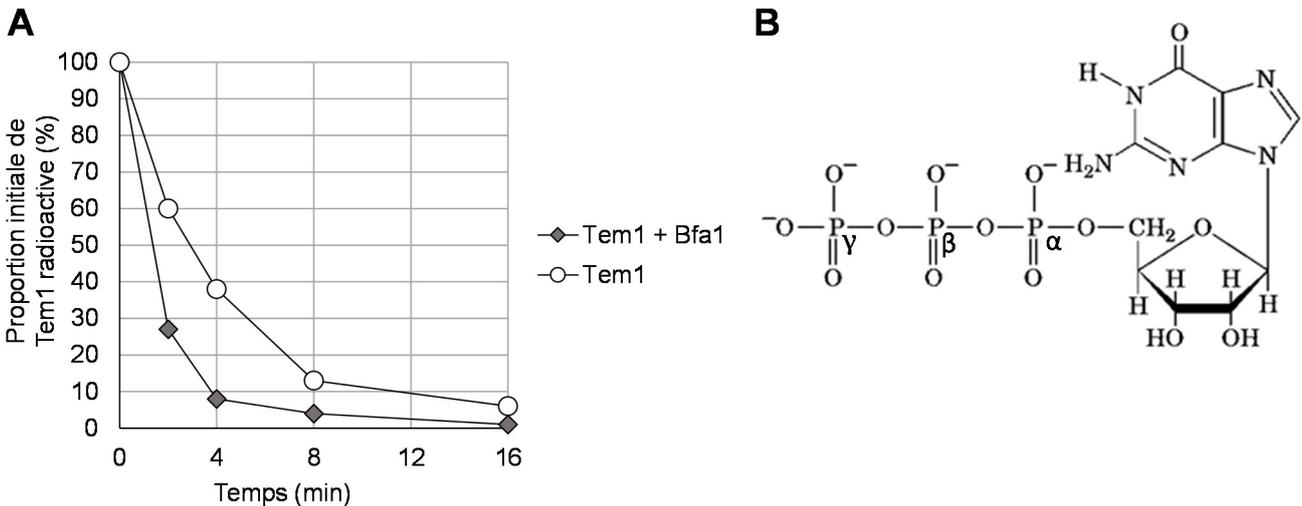


Figure 4. A. Radioactivité associée à Tem1 incubée au préalable avec du $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$; le temps $t = 0$ correspond à l'ajout ou non de Bfa1. **B.** Rappel de la nomenclature des atomes de phosphore du GTP.

Q3) a. Expliquez le principe de l'expérience.

b. Analysez qualitativement et interprétez la figure 4A. Conclure sur le rôle possible de Bfa1 lors de la mitose.

Les figures 2, 3 et 4 ont permis de montrer l'importance de Kin4 et Bfa1 dans le contrôle de la mitose.

Deux approches indépendantes et complémentaires sont utilisées pour étudier le lien entre ces deux protéines clés, ainsi que leurs relations avec d'autres protéines appelées Lte1 et Cdc5 : la figure 5 propose une approche génétique, et les figures 6 et 7 une approche biochimique.

Les questions 6 à 10 peuvent donc être traitées même en cas de non réponse aux questions 4 et 5.

La [figure 5A](#) permet d'étudier le lien entre Kin4 et Bfa1, grâce au suivi de la croissance de doubles mutants. Les [figures 5B et 5C](#) s'intéressent aux liens de Kin4 et Bfa1 avec deux autres protéines, Lte1 et Cdc5, pour lesquelles on dispose de souches mutées.

La nomenclature des souches mutantes est similaire à celle présentée dans le [tableau 1](#) ; la souche *cdc5-ts* exprime une protéine Cdc5 thermosensible, dénaturée au-delà de 30°C.

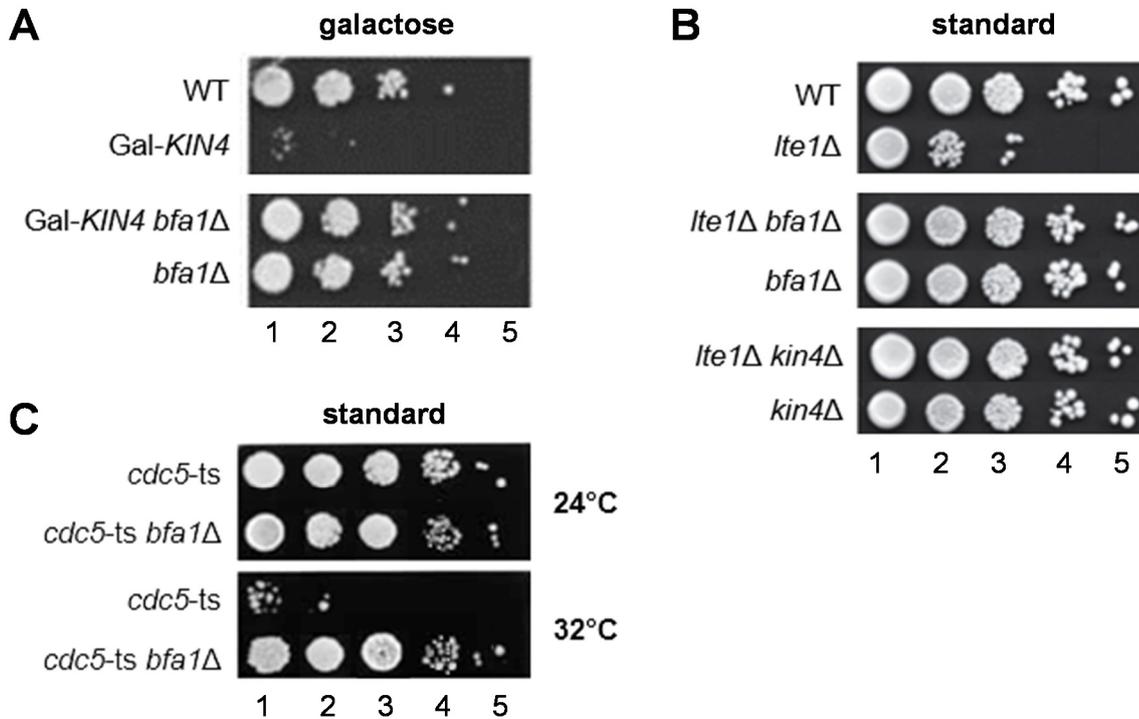


Figure 5. Colonies obtenues après 48h de culture sur milieu solide ; un ensemencement identique de cinq dilutions en série (numérotées de 1 à 5) a été effectué pour chaque souche ; les colonies apparaissent blanches sur fond noir ; le type de milieu (standard ou contenant du galactose) est indiqué au-dessus ; la température de culture est indiquée à droite ; *cdc5-ts* : souche exprimant une protéine Cdc5 thermosensible.

- Q4) a.** D'après la figure 5A, la protéine Bfa1 agit-elle en amont ou en aval de Kin4 ? Justifiez.
b. D'après la figure 5B, quel est l'effet de la protéine Lte1 ? Quels sont ses liens avec Bfa1 et Kin4 ? Justifiez.
c. De la même manière, analysez et interprétez la figure 5C.

Q5) Résumez sur un schéma les informations tirées des figures 2 à 5.

Les relations biochimiques entre ces diverses protéines sont ensuite étudiées (figures 6 et 7).

La [figure 6](#) explore les liens entre Bfa1 et les protéines Cdc5 et Tem1 au cours du cycle cellulaire. Dans ce cadre, on synchronise la division de cellules WT. A différents temps, des extraits protéiques sont réalisés et analysés par western blot ([figure 6A](#)). Parallèlement, une fraction d'extrait réalisé pendant l'anaphase est traitée *in vitro* par une phosphatase puis analysée par western blot ([figure 6B](#)).

Une autre fraction de ce même extrait est soumise à un test de précipitation par un anticorps dirigé contre la protéine Tem1. Après co-incubation de l'anticorps et de l'extrait, les protéines liées à l'anticorps (L), ainsi que celles qui n'ont pas été liées (NL) sont analysées par western-blot (figure 6C).

Le lien entre Cdc5 et Bfa1 est également étudié. On réalise différentes co-incubations *in vitro* avec les protéines Bfa1, Cdc5 et Cdc5-in (version catalytiquement inactive de l'enzyme Cdc5) en présence de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. Les échantillons protéiques ainsi obtenus sont soumis à une électrophorèse en conditions dénaturantes et le ^{32}P lié aux protéines est détecté par autoradiographie (figure 6D). Par ailleurs, on réitère l'expérience menée figure 6A, chez une lignée n'exprimant pas Cdc5 (*cdc5* Δ) (figure 6E).

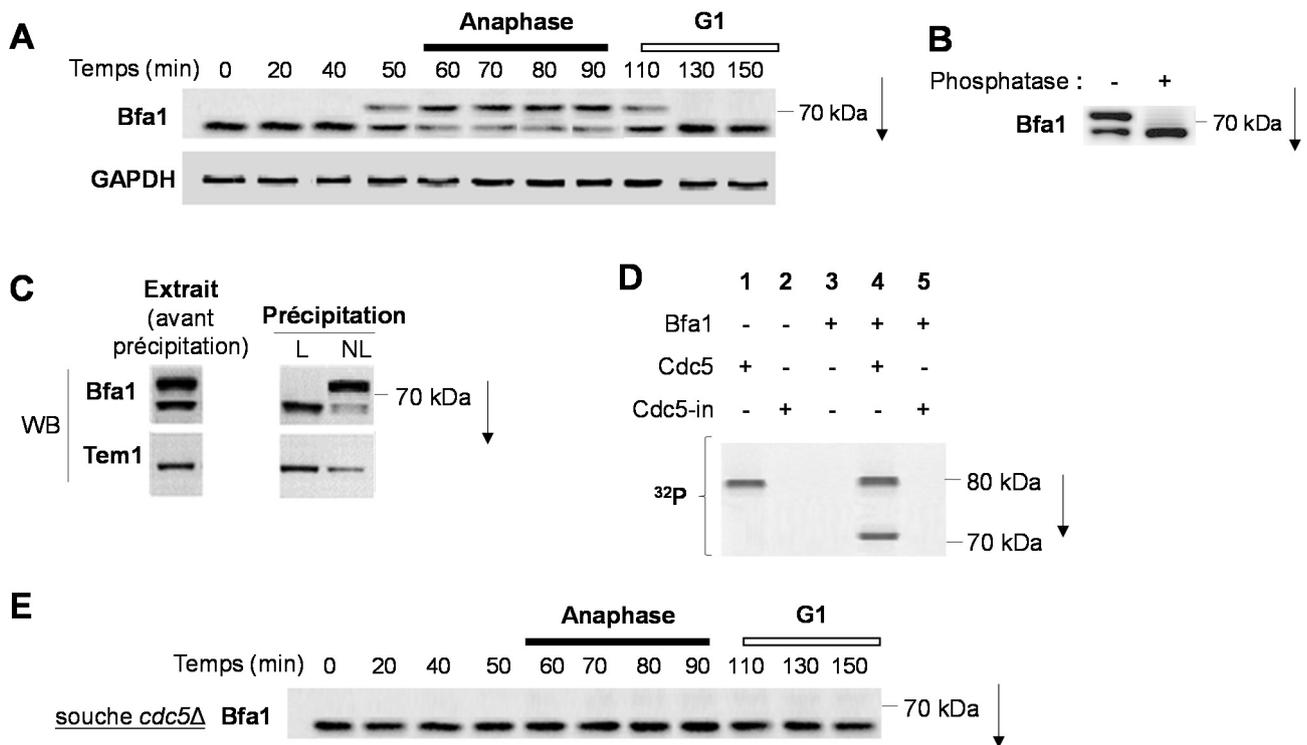


Figure 6. Electrophorèses de protéines en conditions dénaturantes ; les indications de masse moléculaire figurent à droite et la flèche indique le sens de migration. **A,B,C,E.** Western-blots (WB) ; la cible de l'anticorps est indiquée sur la gauche. **A.** Extraits protéiques de levures WT ; la division des cellules débute à $t = 0$; la position de l'anaphase et du cycle suivant est indiquée ; GAPDH : protéine dont la concentration ne varie pas au cours du cycle cellulaire. **B.** Extrait à $t = 70$ min traité (+) ou non (-) *in vitro* par une phosphatase. **C.** Extrait à $t = 70$ min non précipité (avant précipitation) et précipité avec un anticorps anti-Tem1 (Précipitation) ; détection des protéines liées (L) ou non liées (NL) à l'anticorps anti-Tem1. **D.** Autoradiographie du ^{32}P après électrophorèse d'échantillons constitués de $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ co-incubés *in vitro* avec les protéines purifiées Bfa1, Cdc5 et Cdc5-in dans des combinaisons indiquées au-dessus de la figure (+ indique que la protéine a été ajoutée, au contraire du signe -). **E.** Extraits protéiques de levures *cdc5* Δ ; la division des cellules débute à $t = 0$; la position de l'anaphase est indiquée ; l'intensité du signal associé à la GAPDH est constante dans chaque puits (données non présentées sur la figure).

Q6) Analysez et interprétez la figure 6.

La figure 7 explore les relations entre Kin4 et les protéines Bfa1 et Lte1. On co-incube Bfa1 *in vitro* avec du $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ et Kin4 ou sa version catalytiquement inactive (Kin4-in). On purifie alors Bfa1 et on soumet les échantillons à une électrophorèse en conditions dénaturantes. Enfin, on réalise une autoradiographie du ^{32}P ainsi qu'une coloration des protéines (figure 7A).

Lors d'une seconde expérience, Bfa1 est pré-incubée ou non avec Kin4 ou Kin4-in, puis co-incubée ou non avec Cdc5. On analyse ces différents échantillons par western blot, avec un anticorps reconnaissant toute forme de Bfa1 (Bfa1), un anticorps reconnaissant uniquement Bfa1 phosphorylée sur un site de phosphorylation appelé site 1 (Bfa1-P^{site1}), et un anticorps reconnaissant uniquement Bfa1 phosphorylée sur un autre site de phosphorylation appelé site 2 (Bfa1-P^{site2}) (figure 7B).

Enfin, on mesure *in vitro* l'activité kinase de Kin4 sur un substrat approprié en présence de quantités variables de Lte1 ou en présence de GFP (*green fluorescent protein*), une protéine n'interagissant pas avec Kin4 (figure 7C).

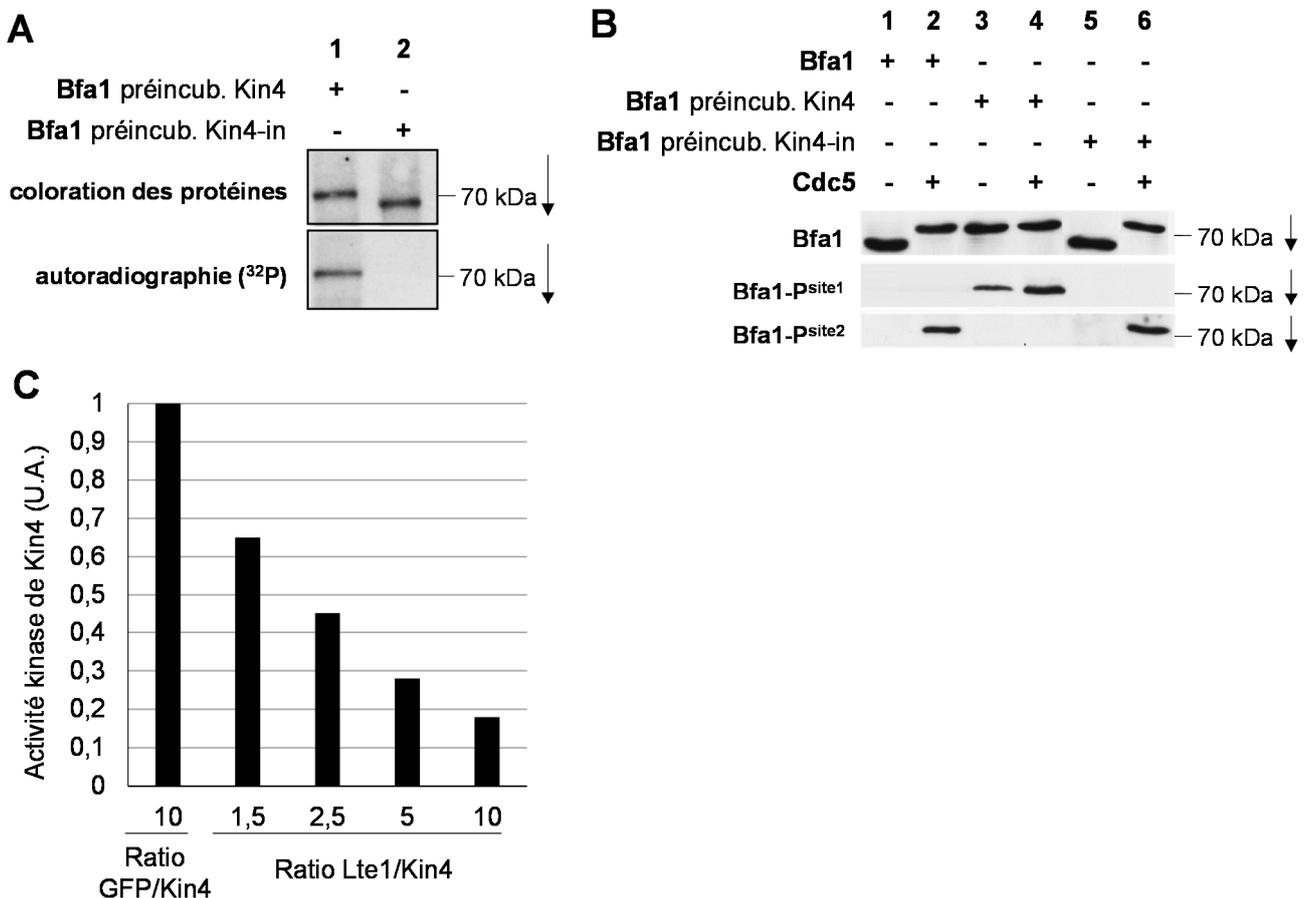


Figure 7. A. Gel d'électrophorèse des protéines en conditions dénaturantes : coloration des protéines et autoradiographie du ^{32}P associé ; échantillons : protéine Bfa1 purifiée après une pré-incubation avec du $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ et Kin4 (puits 1) ou Kin4-in (puits 2) ; le sens de migration (flèche) et le marqueur de masse moléculaire sont indiqués sur la droite. **B.** Western-blots (anticorps indiqués sur la gauche) ; la composition des échantillons protéiques est indiquée dans le tableau au-dessus de la figure : (+) indique que la protéine a été ajoutée, le signe (-) qu'elle ne l'a pas été. **C.** Activité kinase de Kin4 mesurée *in vitro* en présence de GFP ou de Lte1 (ratio indiqué sous l'histogramme) ; U.A : unités arbitraires.

Q7) Analysez et interprétez la figure 7.

Q8) En admettant que Bfa1 phosphorylée sur le site 1 a le même effet sur Tem1 que Bfa1 non phosphorylée, réalisez un schéma bilan résumant les informations tirées des figures 2 à 7.

Pour finir, la localisation subcellulaire de ces différents acteurs est étudiée par immunofluorescence, dans des cellules en anaphase appartenant à la souche WT ou à la souche *dyn1Δ* (qui présente des défauts d'orientation du fuseau mitotique) (figure 8).

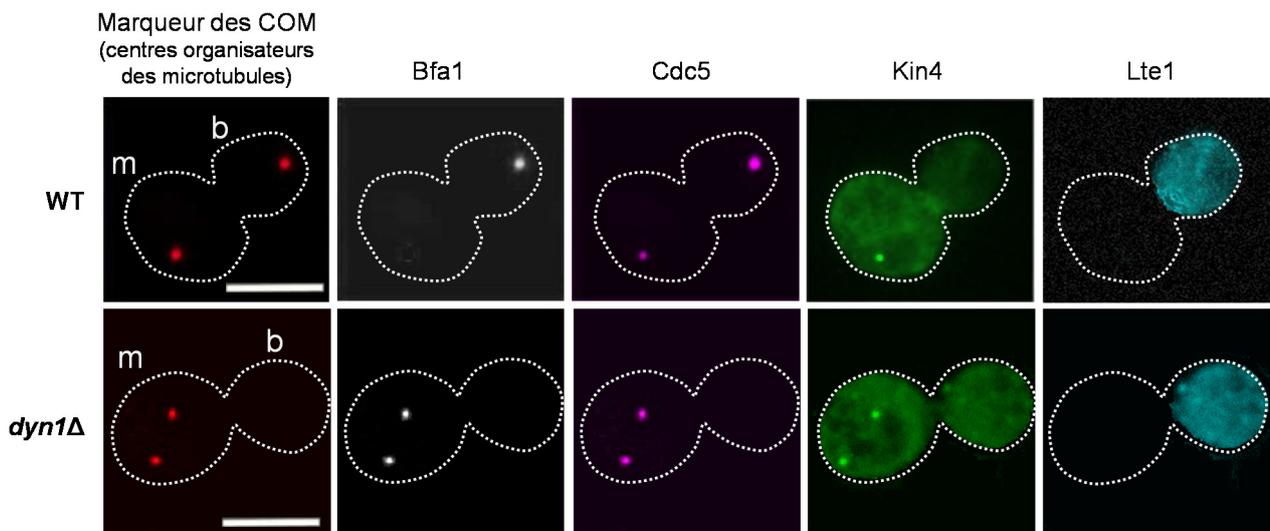


Figure 8. Immunomarquages sur des cellules sauvage (WT, en haut) ou *dyn1Δ* (en bas) en anaphase ; les cibles des anticorps sont indiquées au-dessus des images (COM : centre organisateur des microtubules) ; le contour des cellules est indiqué en pointillés ; la cellule mère est désignée par « m » et le bourgeon par « b » ; barre d'échelle : 5 μ m.

Q9) Décrire la figure 8.

Q10) En vous appuyant sur cette analyse et sur votre schéma bilan (Q8), expliquez de manière concise le fonctionnement et l'importance du point de contrôle de la position du fuseau mitotique en détaillant le cas où le fuseau est correctement positionné en anaphase et le cas où il ne l'est pas.

PARTIE C - Recombinaisons génétiques au cours de la méiose

La méiose permet un brassage génétique. On étudie ici les déterminants moléculaires à l'origine de ce brassage et leur rôle dans le processus méiotique.

S. cerevisiae est une espèce diploïde comportant 16 paires de chromosomes. On réalise un marquage fluorescent de l'ADN et des protéines SYCP1 et SYCP3 (figure 1) sur des noyaux de levure en prophase de la première division méiotique.

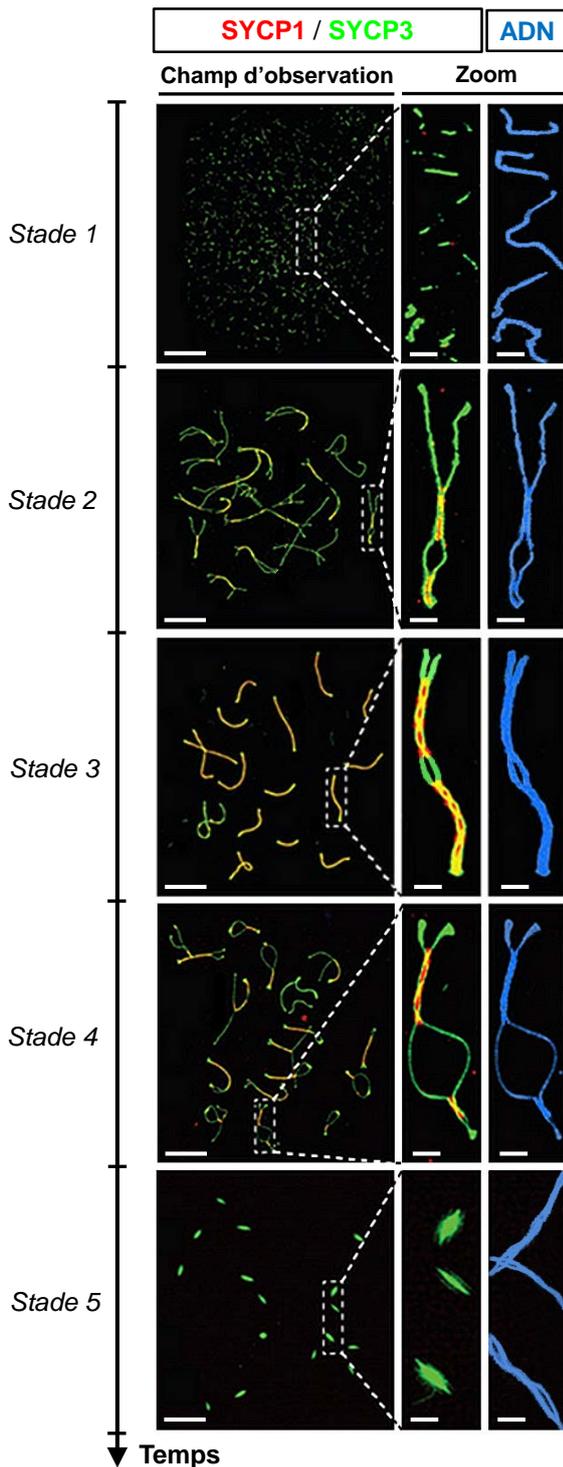


Figure 1. Chromatine de *S. cerevisiae* observée au microscope à fluorescence. L'ADN est marqué en **bleu**, la protéine SYCP1 en **rouge** et la protéine SYCP3 en **vert**. Dans chaque champ (à gauche), on observe la totalité de l'ADN d'un noyau ; Barre d'échelle : 10 µm. Zoom (à droite) ; barre d'échelle : 2 µm

Q1) a. Analysez la figure 1.

b. Proposez des hypothèses concernant le/les rôle(s) de SYCP1 et SYCP3.

Rôle de la protéine SPO11 au cours de la Prophase I de méiose

En parallèle de ces expériences, on étudie la localisation de SYCP3 et la structure de l'ADN au sein des noyaux de cellules sauvages au stade 1 (figure 2A). Pour cela, on utilise deux autres protéines servant de marqueur et se concentrant en certains points de l'ADN (foci) : SSB (*Single Stranded Binding protein*) et RAD51 (une protéine se fixant à l'ADN au niveau des cassures double brin). On compte le nombre de foci associés à chacune de ces protéines, dans des cellules sauvages et mutantes pour SPO11 ($SPO11^{-/-}$) au stade 1 (figures 2B et 2C). Enfin, ces observations et comptages sont répétés sur ces mêmes cellules, 30 min après une forte irradiation (figures 2B et 2C).

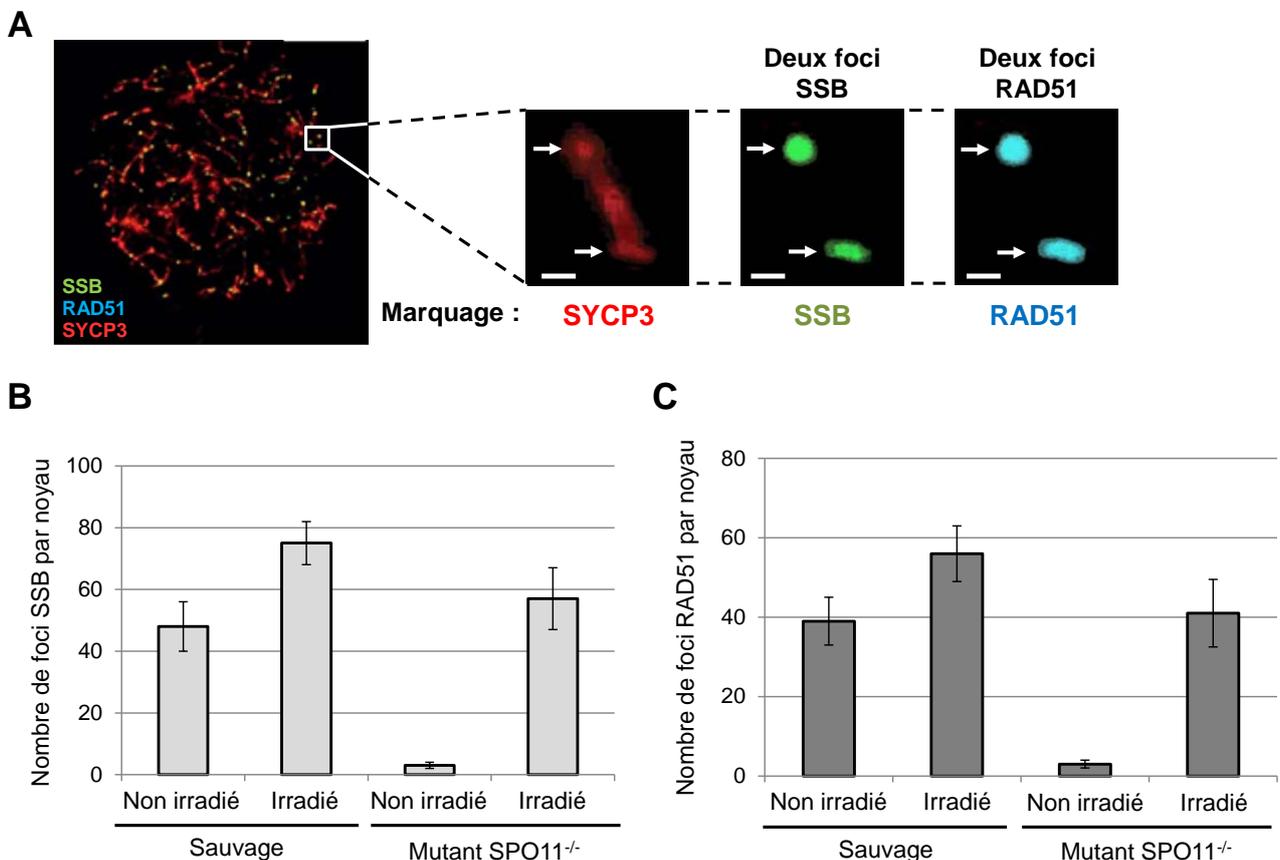


Figure 2. Rôle de la protéine SPO11. **A.** Triple marquage SYCP3 (rouge), SSB (vert) et RAD51 (bleu) réalisé sur une même zone nucléaire chez une cellule sauvage, et montrant les foci SSB et RAD51. La flèche indique une zone identique sur chaque photographie. Barre d'échelle : 2 μ m. **B.** Nombre de foci SSB par noyau chez des cellules sauvages et mutantes ($SPO11^{-/-}$) irradiées ou non. **C.** Nombre de foci RAD51 par noyau chez des cellules sauvages et mutantes ($SPO11^{-/-}$) irradiées ou non.

Q2) a. Analysez et interprétez la figure 2.

b. Schématisez la structure de l'ADN et son interaction avec RAD51 et SSB au niveau des foci.

c. Concluez sur le rôle de la protéine SPO11. Proposez un ou des mécanismes moléculaires pouvant l'expliquer.

Pour mieux comprendre le rôle de la protéine SPO11, on utilise des cellules mutantes $SPO11^{-/-}$ qu'on irradie au stade 1. On analyse alors la localisation de SYCP1 et SYCP3 aux stades 2 et 3 (figure 3).

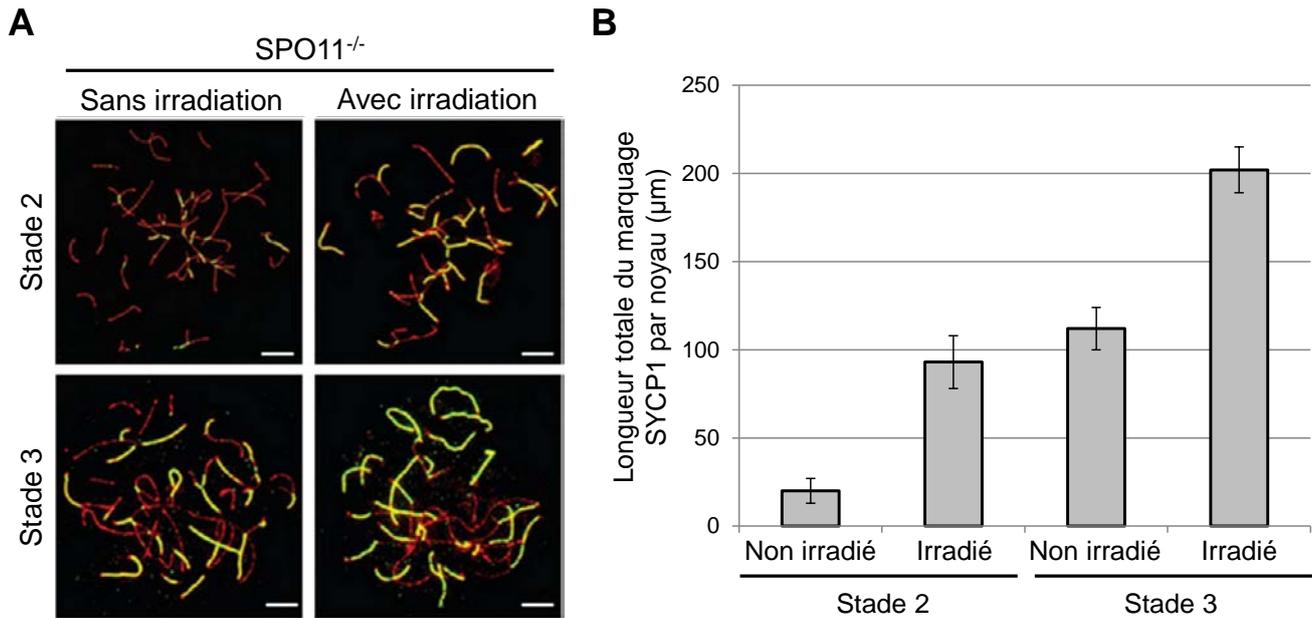


Figure 3. A. Localisation de SYCP1 (vert) et SYCP3 (rouge) chez des cellules mutantes $SPO11^{-/-}$ irradiées ou non au stade 1. La totalité de l'ADN d'un noyau est observé sur le champ proposé. Barre d'échelle : 10 µm. **B.** Longueur totale du marquage SYCP1 dans les quatre conditions testées.

Q3) a. En quoi l'utilisation de l'irradiation pour étudier l'effet de la protéine SPO11 est-elle judicieuse d'un point de vue expérimental ?

b. Analysez et interprétez la figure 3.

c. A l'aide de vos réponses aux questions 1, 2 et 3a, proposez des hypothèses permettant d'expliquer les interrelations existant entre les actions de SPO11, SYCP3 et SYCP1 aux stades 1, 2 et 3.

Réparation des cassures double brin de l'ADN

La structure de l'ADN observée aux foci SSB et RAD51 lors du stade 1 (figure 4A) évolue rapidement, au stade 2, vers la structure présentée figure 4B, grâce notamment à l'intervention de RAD51 et d'ADN polymérase.

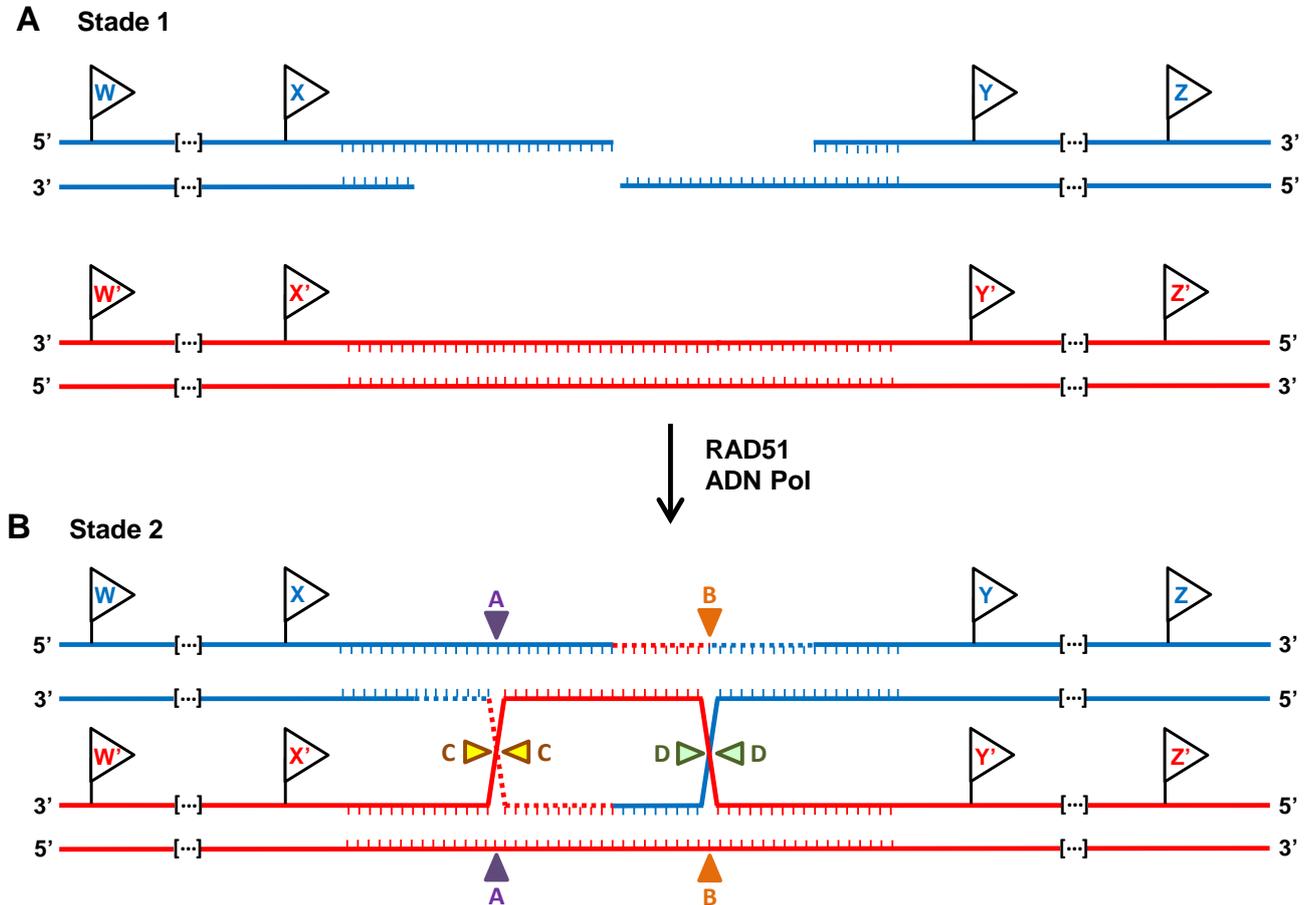


Figure 4. Structure de l'ADN au niveau d'un focus SSB-RAD51 aux stades 1 et 2. En trait rouge plein, chromatide du 1^{er} chromosome homologue ; en trait bleu plein, chromatide du 2nd chromosome homologue. Les drapeaux (W, X, Y, Z et W', X', Y', Z') représentent des marqueurs distants répartis le long du chromosome. Le squelette pentose-phosphate est représenté sous forme de traits gras horizontaux et les bases azotées sous forme de traits fins verticaux. [...] indique que l'échelle de distance n'est pas respectée. **A.** Structure de l'ADN au niveau d'un focus SSB-RAD51 au stade 1. **B.** Structure de l'ADN au niveau d'un focus SSB-RAD51 au stade 2. En trait pointillé, les fragments d'ADN néosynthétisés par les ADN polymérase au stade 2 en utilisant pour matrice les brins avec lesquels ils sont appariés. Triangles : sites d'action potentiels des complexes endonucléase-ligase. Chaque complexe agit simultanément sur 2 sites (soit les sites AA et DD ou les sites AA et BB ou les sites CC et BB ou les sites CC et DD).

Q4) a. La structure d'un focus SSB-RAD51 au stade 2 vous est présentée figure 4B. D'après vos connaissances sur le fonctionnement des ADN polymérase, expliquez les échanges de brin permettant de passer de la structure présentée figure 4A à celle de la figure 4B.

b. Lors du passage du stade 2 au stade 3, deux complexes protéiques composés chacun d'une endonucléase et d'une ligase (complexe endonucléase-ligase) sont activés au niveau d'un focus SSB-RAD51. Leurs actions coordonnées permettent de résoudre la

structure génétique présentée figure 4B et de séparer les 2 chromatides. En respectant le code couleur et les notations de la figure 4, schématisez les différentes structures génétiques possibles résultant de l'action de ces deux complexes. Explicitez votre raisonnement.

c. D'après vos schémas de la question 4b et en analysant la position des marqueurs (W, X, Y, Z, W', Y', X' et Z'), selon vous, dans quel(s) cas y a-t-il eu brassage intrachromosomique ? Quelle est la fréquence d'obtention des différentes structures génétiques issues de la résolution d'un focus SSB-RAD51 ? Justifiez votre réponse.

Rôle de la protéine C au cours de la Prophase I de méiose

On s'intéresse maintenant au rôle de la protéine C qui intervient dans le complexe endonucléase-ligase cité figure 4. La protéine C s'associe à l'ADN au niveau de séquences spécifiques appelées CBS, distribuées le long du chromosome. Elle permet d'assurer la cohésion entre les deux chromatides sœurs.

On compte le nombre de foci RAD51 sur un noyau entier ou aux loci CBS, dans des cellules sauvages et des cellules mutantes pour la protéine C ($C^{-/-}$) aux stades 1, 2 et 3 (figures 5A et 5B).

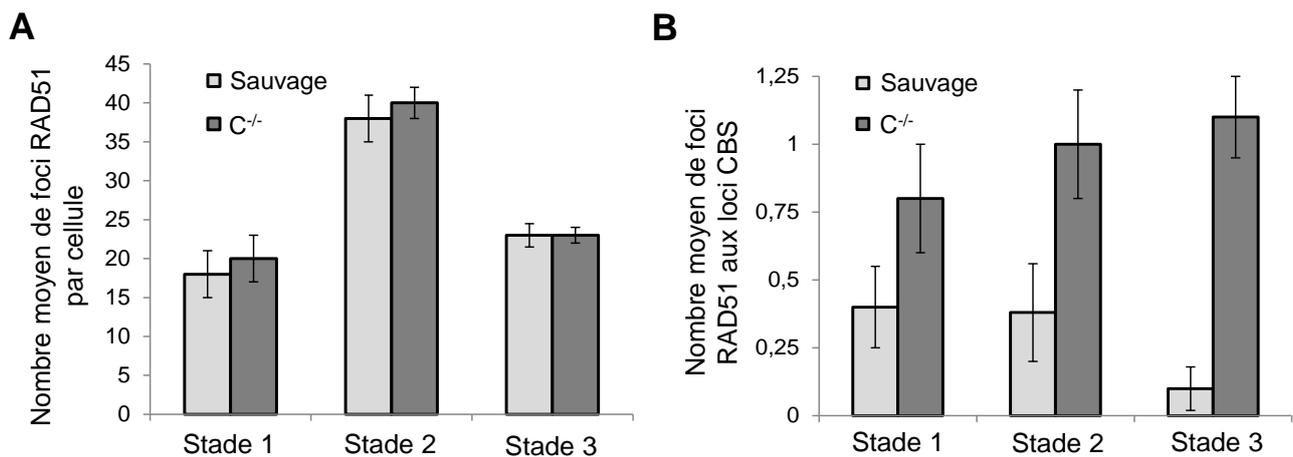


Figure 5. Rôle de la protéine C dans les étapes précoces de la méiose I. **A.** Nombre moyen de foci RAD51 par cellule chez des cellules sauvages et $C^{-/-}$ aux stades 1, 2 et 3. **B.** Nombre moyen de foci RAD51 à un locus CBS chez des cellules sauvages et $C^{-/-}$ aux stades 1, 2 et 3. Les stades 1, 2 et 3 font référence à la figure 1.

Q5) Analysez et interprétez la figure 5. Proposez plusieurs hypothèses explicatives en lien avec les questions précédentes.

Rôle de la protéine SPO11 et de la protéine C dans les étapes ultérieures de la méiose I

On marque un locus quelconque immédiatement adjacent à un locus CBS et on suit sa ségrégation au cours de la méiose chez des cellules sauvages, $SPO11^{-/-}$, $C^{-/-}$ ou doubles mutantes

($SPO11^{-/-}$; $C^{-/-}$) (figures 6A et 6B). On appelle ségrégation, la séparation de chromosomes lors de l'anaphase. On détermine si le locus est capable de ségréger et, si oui, si la ségrégation s'effectue à des pôles opposés de la cellule.

Par une expérience similaire, on suit la ségrégation du locus marqué dans des cellules sauvages et $SPO11^{-/-}$ ayant ou non subi une irradiation au stade 1, spécifiquement au locus CBS adjacent (figure 6C).

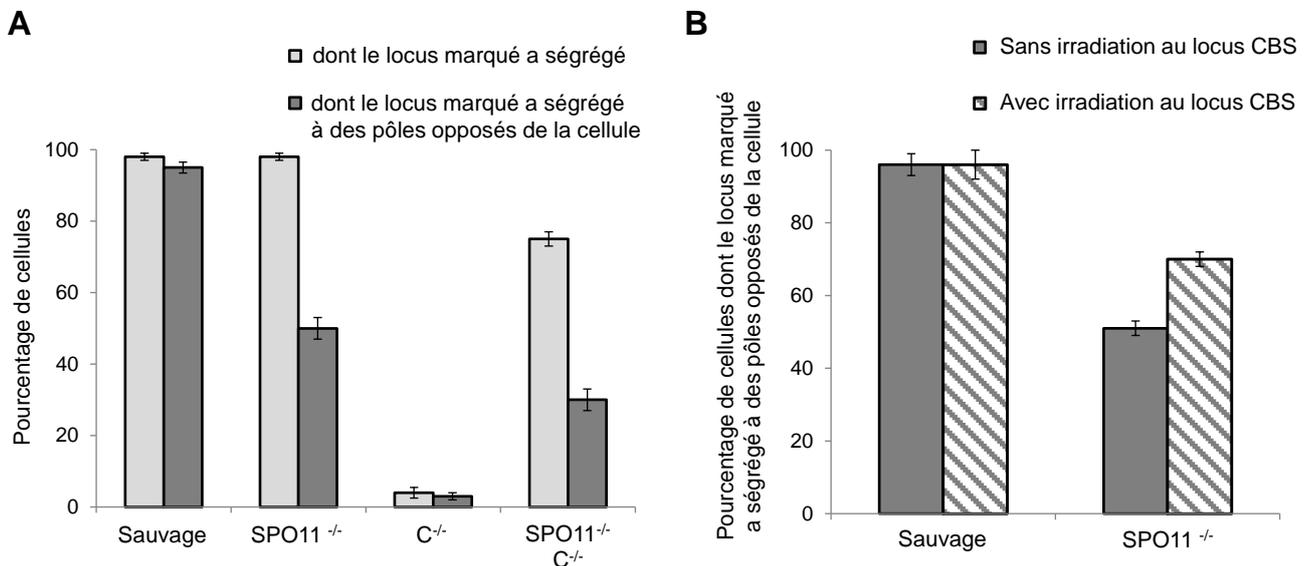


Figure 6. Rôles des protéines C et SPO11 dans les étapes ultérieures de la méiose I. A. Pourcentage de cellules dont le locus marqué a ségrégré ou a ségrégré à des pôles opposés de la cellule chez des cellules sauvages, $SPO11^{-/-}$, $C^{-/-}$, $SPO11^{-/-} C^{-/-}$. **B.** Pourcentage de cellules dont le locus marqué a ségrégré à des pôles opposés de la cellule chez des cellules sauvages et $SPO11^{-/-}$ avec ou sans irradiation préalable spécifiquement au locus CBS adjacent, au stade 1.

Q6) a. Comment peut-on marquer un locus ?

b. Analysez et interprétez les résultats de la figure 6.

c. Concluez. En utilisant vos réponses aux questions précédentes (notamment 3b, 4b et 4c) et les données de l'énoncé, proposez des hypothèses concernant la/les fonctions des protéines C et SPO11 au cours de la méiose I.

Contrôle du positionnement des crossing-over au cours de la Prophase I

Un crossing-over (CO) est un échange d'une portion de chromatide contenant un ou plusieurs gènes et des séquences inter-géniques entre 2 chromosomes homologues. Chaque évènement de CO est donc à l'origine d'un brassage intrachromosomique. Diverses expériences montrent que les évènements de CO ne sont pas répartis aléatoirement le long du chromosome.

Dans cette expérience, on utilise des marqueurs répartis le long des chromosomes. La portion de chromosome située entre 2 marqueurs définit un intervalle (figure 7A). On compte le nombre de foci RAD51 dans chaque intervalle chez des cellules sauvages et des cellules $C^{-/-}$ au stade 2 (figure 7A). Au stade 3, on marque l'ADN en rouge et on visualise la position des CO grâce à un marqueur spécifique fluorescent vert (figure 7B). On calcule alors un paramètre appelé coefficient

de coïncidence : chaque chromosome est divisé en intervalles de longueur physique identique. On considère les intervalles 2 à 2 et pour chaque paire d'intervalles, on calcule le ratio de la fréquence de chromosomes avec un CO dans chaque intervalle par rapport à la fréquence attendue pour une occurrence indépendante des CO dans chaque intervalle (figure 7B). On évalue le coefficient de coïncidence pour différents chromosomes (figure 7C) et pour différentes souches mutantes (figure 7D) en fonction de la distance inter-intervalles.

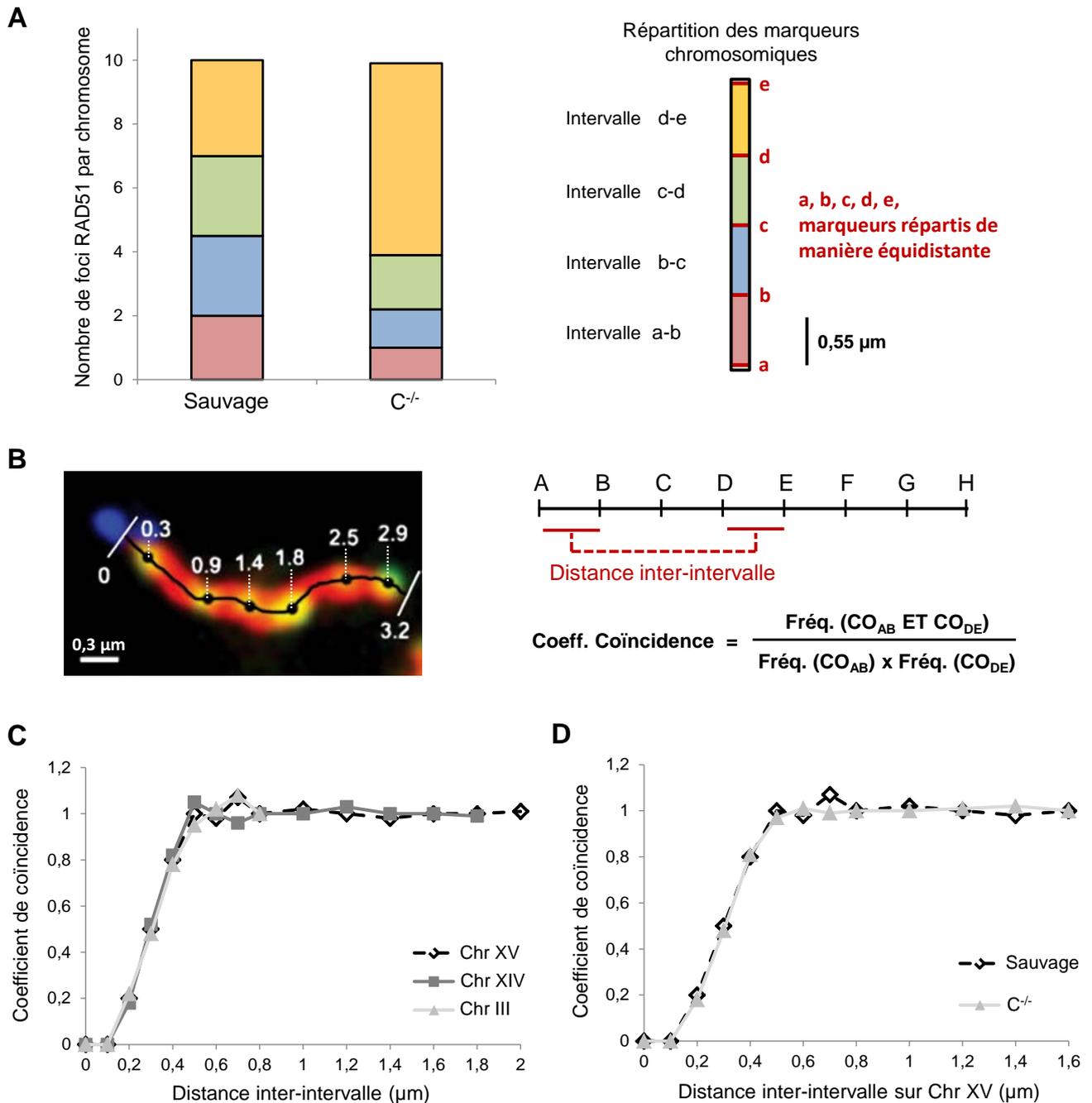


Figure 7. Répartition chromosomique des foci RAD51 et des crossing-over. **A.** Nombre de foci RAD51 dans chaque intervalle chromosomique du chromosome XV chez des cellules sauvages et mutantes C^{-/-}. **B.** Méthode de calcul du coefficient de coïncidence. L'ADN est marqué en rouge et les zones de CO en vert. La distance physique (en µm) depuis le point 0 est indiquée en blanc. **C et D.** Coefficient de coïncidence en fonction de la distance inter-intervalle pour différents chromosomes chez une souche sauvage (**C**) ; et pour le chromosome XV de différentes souches : sauvage et mutant C (C^{-/-}) (**D**).

Q7) a. Analysez et interprétez la figure 7A. Concluez sur le rôle de la protéine C dans ce processus.

b. D'après sa formule, que représente le coefficient de coïncidence ?

c. Analysez les résultats de la figure 7C et 7D. Comment interprétez-vous ces résultats ? Conclure.

d. Quel pourrait être le rôle biologique de ce type de mécanisme ?

Q8) A partir de vos réponses aux questions précédentes, retracer chronologiquement le rôle des différentes structures génétiques et des protéines étudiées au cours des premières étapes de la division méiotique.

FIN DU SUJET

—