

EPREUVE E4
BIOCHIMIE-BIOLOGIE

Calculatrice interdite.

REMARQUES PRÉLIMINAIRES :

- 1 - Le sujet proposé a un caractère pluridisciplinaire. Le candidat devra veiller à répondre de manière concise aux questions posées afin de pouvoir traiter l'ensemble du sujet.
- 2 - Il est suggéré de consacrer à chaque question un temps tenant compte du nombre de points attribués.

LA MULTIPLICATION CELLULAIRE : PHENOMENE UNIVERSEL

La multiplication cellulaire est un phénomène biologique essentiel qui augmente le nombre de cellules tout en permettant la conservation des caractères génétiques dans la descendance.

On étudiera successivement :

- l'ADN, molécule support de l'information génétique, et certains de ses constituants,
- quelques aspects des mécanismes de division cellulaire,
- des exemples d'inhibiteurs de la multiplication cellulaire,
- la multiplication cellulaire dans certains phénomènes physiologiques comme la réponse immunitaire.

1) Organisation moléculaire du matériel génétique (32 points)

1.1) Nucléotides et acides nucléiques

Les nucléotides constituent le matériel de base des acides nucléiques.

1.1.1) Structure des nucléotides

Nommer les molécules entrant dans la composition des nucléotides.
Préciser la nature des liaisons qui les unissent.

1.1.2) Structure des ADN

1.1.2.1) Nommer précisément l'ose présent dans les ADN et écrire sa formule cyclique.

1.1.2.2) Représenter, de façon développée, à l'aide du document n° 1, le dinucléotide pdApdT.
Préciser le sens 5' → 3'.

1.1.2.3) Les ADN sont bicaténaires.

Quelles particularités présentent les deux brins l'un par rapport à l'autre (préciser la nature et le nombre de liaisons mises en jeu dans l'appariement des deux chaînes) ?

1.1.3) Séquençage des ADN

Le séquençage d'un brin d'ADN est souvent effectué par la méthode « didésoxy » de SANGER qui utilise une réplication. Cette réplication nécessite une amorce et la présence d'ADN polymérase permettant l'élongation de la chaîne nucléotidique de 5' vers 3'.

1.1.3.1) Sur un schéma, faire figurer l'amorce et préciser le sens du brin d'ADN et de l'amorce.
Indiquer clairement la partie du brin d'ADN séquencée.

1.1.3.2) Que faut-il en plus dans le milieu pour permettre l'élongation de la chaîne ?

1.1.3.3) Ce processus se différencie du procédé naturel de réplication par l'ajout, dans le milieu réactionnel, d'un composé particulier.

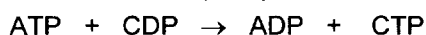
Nommer ce composé et schématiser sa structure, en développant la partie de la molécule responsable de cette différence ; expliquer son rôle au niveau du séquençage par la méthode de Sanger.

1.2) Les nucléotides : leurs rôles cellulaires

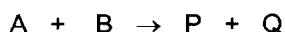
Outre leur rôle structural, les nucléotides (et notamment les ribonucléotides) ont un rôle cellulaire essentiel. Dans la cellule, les nucléotides sont généralement sous forme de nucléosides triphosphate. Ces derniers sont souvent formés à partir de nucléosides diphosphate grâce à la nucléoside diphosphate kinase.

1.2.1) Cinétique de la nucléoside diphosphate kinase

La nucléoside diphosphate kinase catalyse la réaction :



Le mécanisme de cette cinétique à deux substrats est un mécanisme PING-PONG. Il obéit au modèle général :



1.2.1.1) Expliquer brièvement le mécanisme ping-pong.

Signaler l'évolution générale de la réaction par la notation de Cleland.

1.2.1.2) L'expression de la vitesse initiale en fonction des concentrations des 2 substrats dans le mécanisme bi-bi ping-pong est du type :

$$v_i = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_A}{[A]} + \frac{K_B}{[B]}}$$

Les vitesses initiales, en présence d'une concentration constante en nucléoside diphosphate kinase, pour différentes concentrations d'adénosine triphosphate (ATP : substrat A) et de cytidine diphosphate (CDP : substrat B) peuvent être mesurées et utilisées dans une représentation en coordonnées inverses (représentation de Lineweaver et Burk ; document n° 2).

- Indiquer comment, à partir d'une telle représentation primaire, on peut, grâce aux ordonnées à l'origine ($1/V_A$), faire une représentation secondaire de Lineweaver et Burk permettant de déterminer la constante de Michaelis relative au CDP ainsi que la vitesse maximum V_{\max} .
- Justifier la réponse.

1.2.2) Intervention des nucléotides dans les régulations

Les ribonucléosides triphosphate interviennent, d'une part, comme composés à haut potentiel d'hydrolyse et permettent, d'autre part, d'assurer directement ou indirectement par leurs dérivés une régulation des voies métaboliques.

Parmi ces dérivés, il faut citer l'AMP cyclique (AMPc) qui intervient dans la transduction du signal hormonal.

1.2.2.1) Comment, d'un point de vue fonctionnel, peut-on qualifier l'AMPc ?

1.2.2.2) - Montrer comment l'AMPc intervient dans la régulation de la glycogénolyse musculaire.

On insistera principalement sur les diverses enzymes qui, par leur modification, permettent une cascade amplificatrice de l'action de l'adrénaline après fixation sur son β -récepteur.

- La glycogénogénèse est un mécanisme de synthèse du glycogène opposé à la glycogénolyse chez l'homme. L'enzyme centrale de la glycogénogénèse est la glycogène synthase.

- Donner la réaction chimique résumant l'action de la glycogène synthase. On écrira les formules détaillées des motifs glucidiques mis en jeu.
- La glycogène synthase et la glycogène phosphorylase sont régulées de façon réciproque. Illustrer cette constatation en décrivant l'effet de l'AMPc sur la glycogénogénèse à la suite de l'action de l'adrénaline sur le muscle.

1.3) Chromatine et ADN

Dans le noyau, l'ADN est associé étroitement à des protéines ; l'ensemble constitue la chromatine. Nommer les éléments désignés de 1 à 3 du document n° 3.

2) Noyau et division cellulaire (40 points)

2.1) Noyau et nucléoïde bactérien

En biologie la présence d'un noyau est un critère important de différence entre les cellules procaryotes et eucaryotes.

- 2.1.1)** Le document n° 4 représente l'ultrastructure du noyau d'une cellule animale. Donner le nom des structures numérotées de 1 à 6.
- 2.1.2)** Préciser le rôle du nucléole.
- 2.1.3)** Présenter les particularités du nucléoïde bactérien par rapport au noyau de la cellule eucaryote.

2.2) Cycle cellulaire et chromosomes

L'organisme vivant produit continuellement de nouvelles cellules afin de remplacer celles qui sont éliminées ; les cellules au repos entrent alors dans le cycle cellulaire.

- 2.2.1)** Citer dans l'ordre chronologique les différentes phases du cycle cellulaire.
- 2.2.2)** Détailler les événements qui se produisent au cours de l'interphase.
- 2.2.3)** Afin d'étudier le contenu chromosomique du noyau, on peut utiliser la colchicine qui provoque l'arrêt de la mitose au stade métaphase.
Le document n° 5 représente une cellule et un chromosome en métaphase. Donner le nom des structures numérotées de 1 à 9.
- 2.2.4)** Le fuseau mitotique, constitué de microtubules, rentre dans la constitution du cytosquelette.
Citer deux autres catégories de filaments du cytosquelette.
- 2.2.5)** Les microtubules, constitués de tubulines, sont polarisés (extrémité + et extrémité -) et présentent une structure dynamique.
- Indiquer à quoi correspondent les extrémités + et - figurant dans le document n° 6.
 - Justifier le terme « dynamique » à l'aide de l'expérience schématisée dans ce document.
- 2.2.6)** Sachant que la colchicine bloque la réaction se déroulant à l'extrémité +, quelle sera la conséquence sur le fuseau mitotique ?

2.3) Chromosome bactérien et transfert

La réplication de l'ADN est nécessaire à certains transferts de gènes entre bactéries.

- 2.3.1)** En prenant l'exemple de l'ADN de *E.coli*, citer les principales enzymes qui interviennent dans la réplication de l'ADN chromosomique.
- 2.3.2)** La conjugaison est un moyen de transfert de gènes.
- 2.3.2.1)** Définir la conjugaison bactérienne.

2.3.2.2) Un transfert de gènes est toujours orienté d'une cellule donneuse vers une cellule receveuse.

Indiquer les caractéristiques des génomes de ces cellules.

2.3.2.3) Seules les cellules Hfr assurent un transfert efficace de gènes chromosomiques aux cellules receveuses F^- .

- Expliquer, à l'aide de schémas, ce transfert chromosomique.
- Préciser le résultat final quant à l'information génétique dans les deux cas suivants :
 - conjugaison interrompue.
 - conjugaison non interrompue.
- Donner un exemple de critère de sélection des recombinants.

2.3.2.4) Expliquer comment la conjugaison Hfr x F^- permet de déterminer la localisation relative des gènes sur le chromosome bactérien.

2.3.3) Les plasmides, éléments extrachromosomiques, peuvent être transférés par conjugaison.

Enumérer les principaux sites et gènes responsables des propriétés des plasmides.

3) Inhibition de la multiplication cellulaire (28 points)

La multiplication cellulaire peut être inhibée par des substances qui bloquent la synthèse d'ADN.

3.1) Inhibition compétitive

3.1.1) Expliquer par des schémas le mécanisme de l'inhibition compétitive en insistant sur les complexes réversibles formés.

3.1.2) Ecrire l'équation donnant la vitesse initiale en fonction des concentrations en substrat et inhibiteur dans le cas d'une inhibition compétitive d'une réaction michaelienne à un substrat.

3.1.3) Donner l'aspect des représentations de Lineweaver et Burk correspondantes en coordonnées inverses (enzyme non inhibée, enzyme inhibée).

3.1.4) Une représentation graphique pratique (document n° 7) permet de déterminer une constante caractéristique (K_m est la constante de Michaelis apparente de l'enzyme inhibée).

Indiquer à quoi correspondent, sur ce document, l'ordonnée A et l'abscisse B. Justifier.

3.2) Acide folique et antifolates

L'acide folique est un coenzyme qui intervient dans la synthèse des acides nucléiques.

3.2.1) Inhibition par le méthotrexate

Le document n° 8 présente les formules développées de l'acide folique et de ses dérivés.

La dihydrofolate réductase (DHFR) humaine ou animale est inhibée compétitivement par le méthotrexate (voir document n° 9). La réaction catalysée par la DHFR figure dans le document n° 11 résumant la synthèse cellulaire du désoxythymidine monophosphate.

3.2.1.1) L'acide tétrahydrofolique (FH4) intervient notamment dans la synthèse cellulaire du dTMP.

Indiquer, d'un point de vue général, les types de réactions auxquelles ce coenzyme participe.

3.2.1.2) A partir des documents n° 8, 9 et 11 :

- expliquer pourquoi le méthotrexate peut bloquer la synthèse de l'ADN,
- justifier le type d'inhibition occasionné.

3.2.2) Inhibition par l'aminoptérine

La voie principale de synthèse des acides nucléiques est bloquée par l'aminoptérine, inhibiteur de l'acide folique.

La synthèse peut néanmoins être effectuée par une voie alterne dans laquelle interviennent deux enzymes :

- la HGPRT (hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase)
- la thymidine kinase.

L'inhibition par l'aminoptérine est utilisée pour la sélection de certains hybrides dans la préparation des anticorps monoclonaux par la technique de fusion classique.

3.2.2.1) Citer les cellules que l'on veut fusionner.

3.2.2.2) Ces cellules possèdent des propriétés particulières mises à profit dans la préparation des anticorps monoclonaux. Indiquer ces propriétés.

3.2.2.3) Expliquer le principe de sélection des hybrides par utilisation d'aminoptérine.

3.3) Inhibition de la multiplication bactérienne

3.3.1) Les antibiotiques sont utilisés dans le traitement des infections bactériennes.

Donner une définition complète de ces substances.

3.3.2) A l'aide des formules des documents n° 8 et 10, expliquer le mécanisme d'action antibactérienne de la sulfanilamide.

4) Multiplication cellulaire dans les phénomènes immunologiques (20 points)

Les cellules du système immunitaire font l'objet d'une multiplication cellulaire intense au cours de la vie embryonnaire et après stimulation antigénique.

4.1) Multiplication au cours de la vie embryonnaire

Une multiplication cellulaire importante se produit dans les organes lymphoïdes primaires.

4.1.1) Nommer les organes lymphoïdes primaires et préciser le type de lymphocytes qui s'y forment.

4.1.2) Les lymphocytes T se forment à partir des cellules précurseurs.

Citer les principaux phénomènes qui se produisent au cours de cette maturation et qui permettent d'obtenir des lymphocytes T « éduqués ».

4.2) Multiplication après stimulation antigénique

Au cours de la réponse immunitaire, les cellules spécifiques de l'antigène subissent une importante prolifération.

4.2.1) L'antigène joue un rôle essentiel dans le déclenchement de cette multiplication cellulaire puisqu'en se fixant sur le récepteur spécifique, il active les cellules au repos qui passent alors du stade G0 au stade G1.

- Présenter brièvement les différents constituants des récepteurs antigéniques des lymphocytes T et B.
- Préciser les molécules reconnues par le récepteur de l'antigène des lymphocytes T auxiliaires.

4.2.2) La stimulation antigénique est insuffisante, dans le cas général, pour provoquer la prolifération cellulaire. Des cytokines doivent être mises en jeu.

4.2.2.1) L'interleukine 2 (IL-2) est une cytokine qui joue un rôle important dans les réponses humorales nécessitant l'intervention des lymphocytes T auxiliaires.

- Expliquer les circonstances de sa production et présenter ses principaux effets cellulaires dans ce type de réponse.
- Présenter les caractéristiques générales d'action des cytokines sur les cellules du système immunitaire.

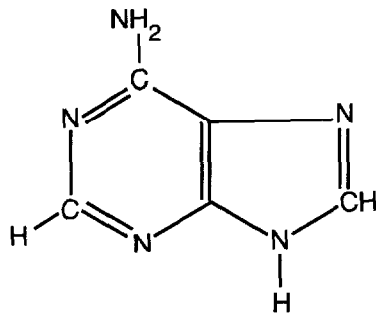
4.2.2.2) Expliquer pourquoi seuls les clones lymphocytaires spécifiques de l'antigène sont impliqués dans la prolifération.

4.3) Les cellules animales peuvent aussi se multiplier en culture, in vitro. Les lymphocytes ont besoin de substances mitogènes pour se diviser et la prolifération des cellules adhérentes nécessite des facteurs de croissance.

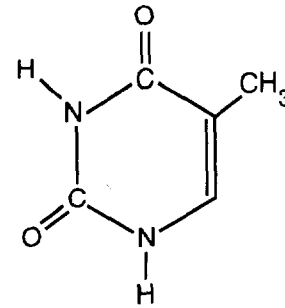
4.3.1) Citer un exemple de mitogène utilisé en culture lymphocytaire.

4.3.2) Quelles sont les origines des facteurs de croissance intervenant dans la culture des cellules adhérentes ?

DOCUMENT N°1



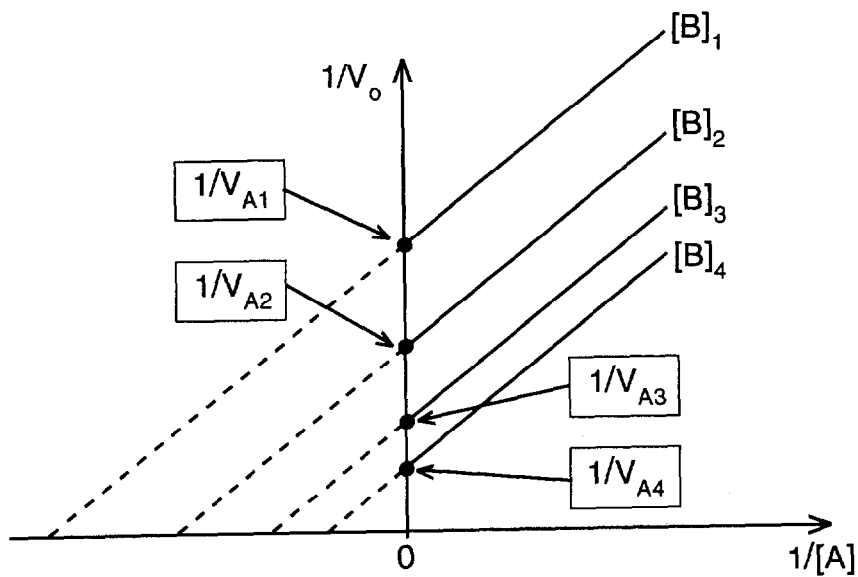
Adénine



Thymine

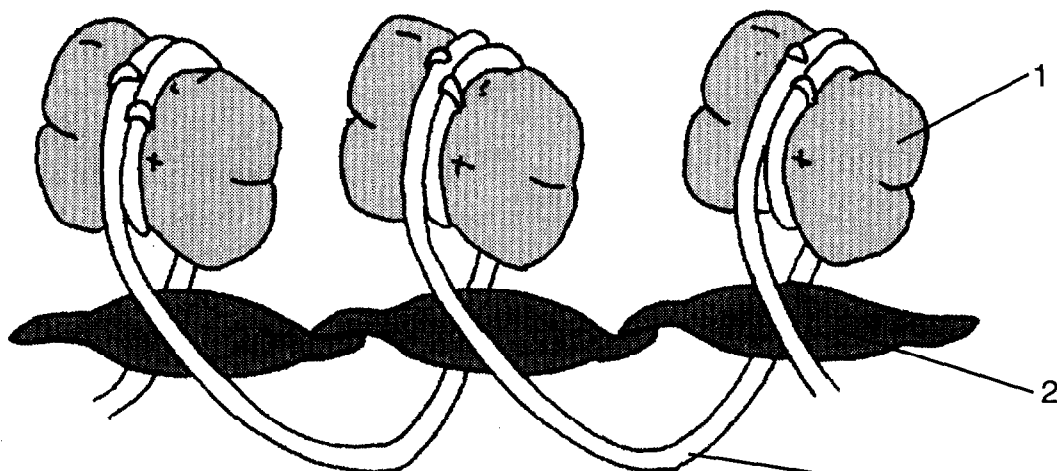
Formules de l'adénine et de la thymine

DOCUMENT N°2



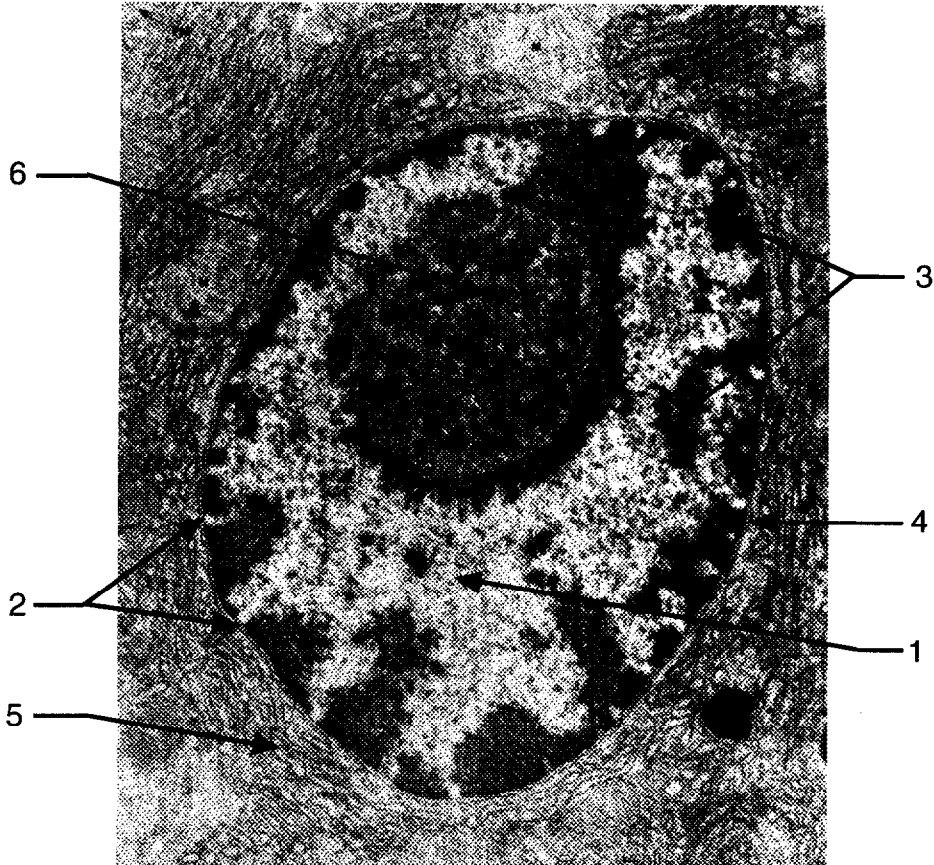
Nucléoside diphosphate kinase : représentation primaire

DOCUMENT N°3



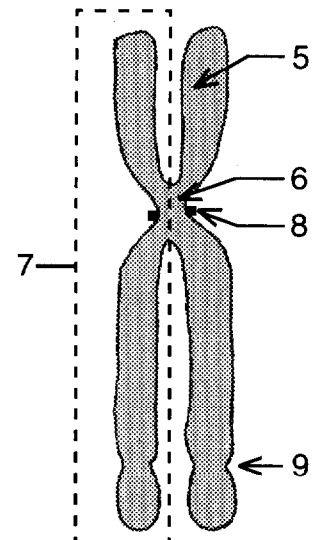
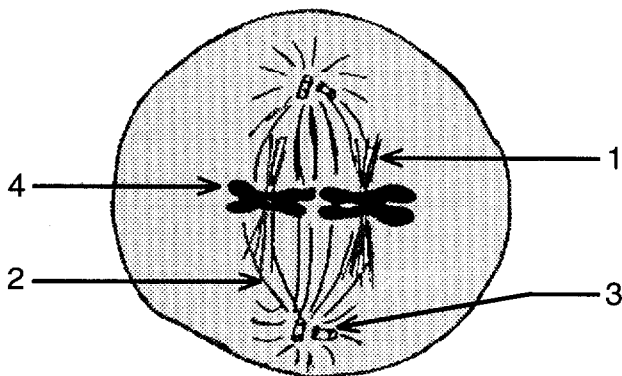
Fibre chromatinienne

DOCUMENT N°4



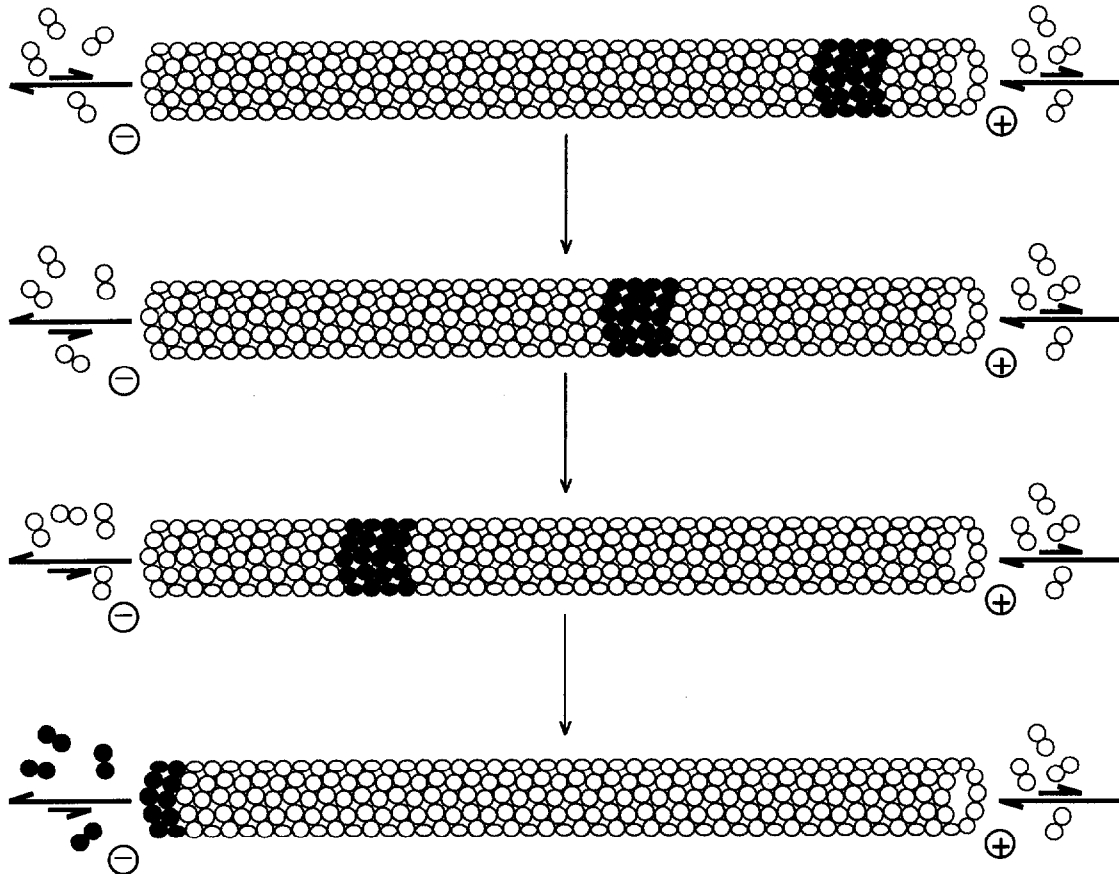
Ultrastructure du noyau d'une cellule eucaryote
d'après Stephen L. Wolfe

DOCUMENT N°5



Cellule et chromosome en métaphase

DOCUMENT N°6



Microtubules (modèle du tapis roulant)

Ce schéma représente la localisation dans le temps des molécules de tubulines marquées (zone sombre).

DANS CE CADRE

Académie : _____ Session : _____
Examen ou Concours _____ Série* : _____
Spécialité/option* : _____ Repère de l'épreuve : _____
Épreuve/sous-épreuve : _____
NOM : _____
(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)
Prénoms : _____ N° du candidat
Né(e) le : _____
(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

Repère : BC BIOCH

SESSION 2002

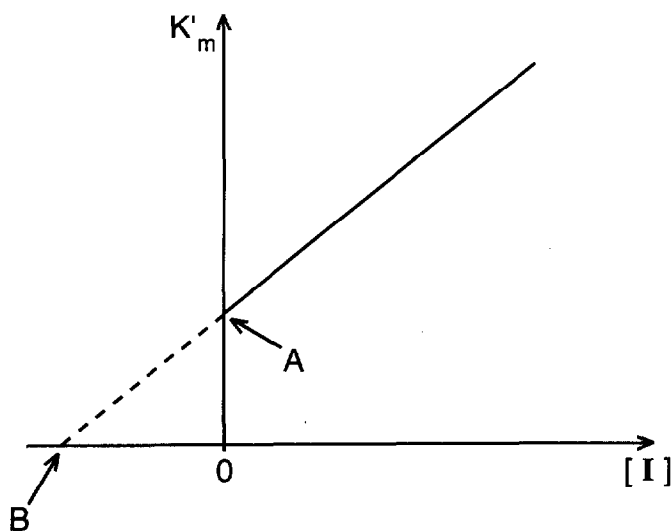
Durée : 4 H

Page : 10/12

Coefficient : 6

DOCUMENT N°7

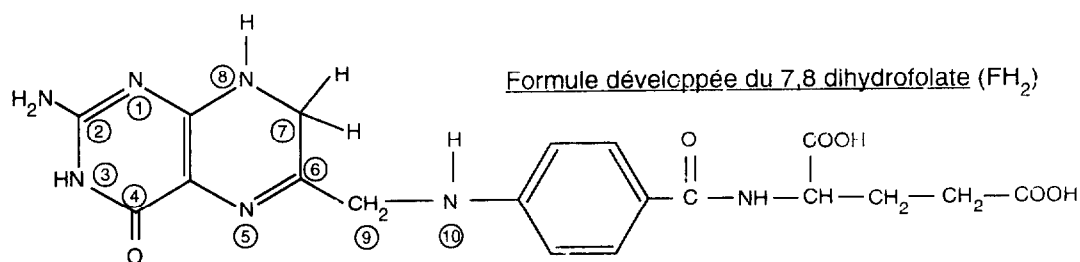
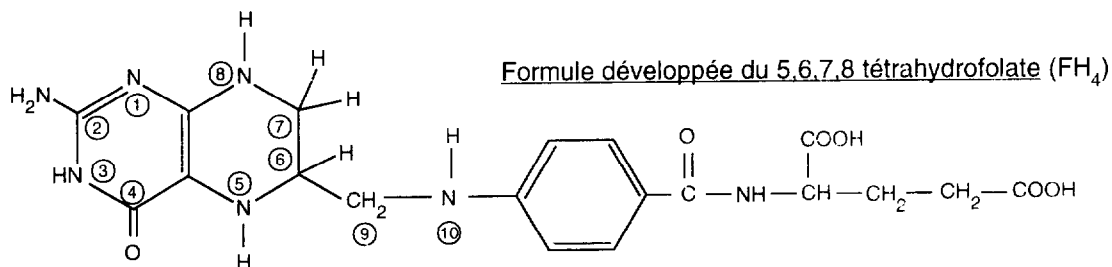
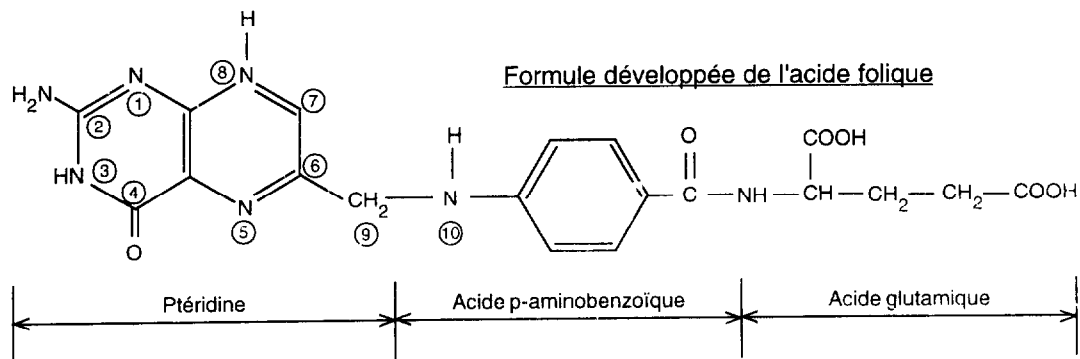
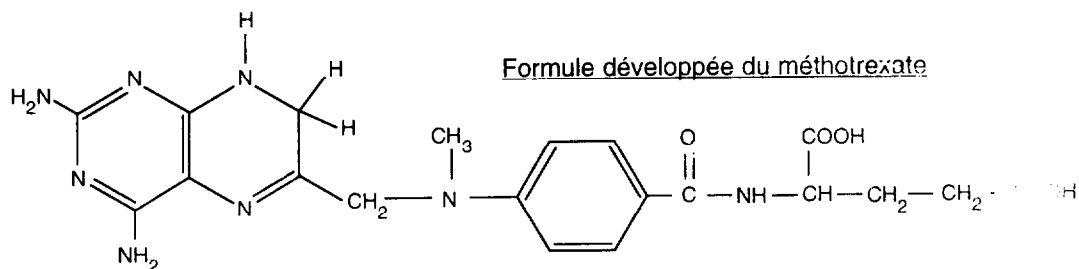
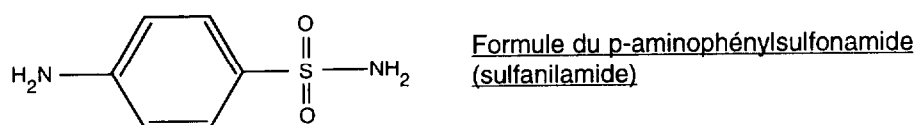
DOCUMENT A RENDRE AVEC LA COPIE

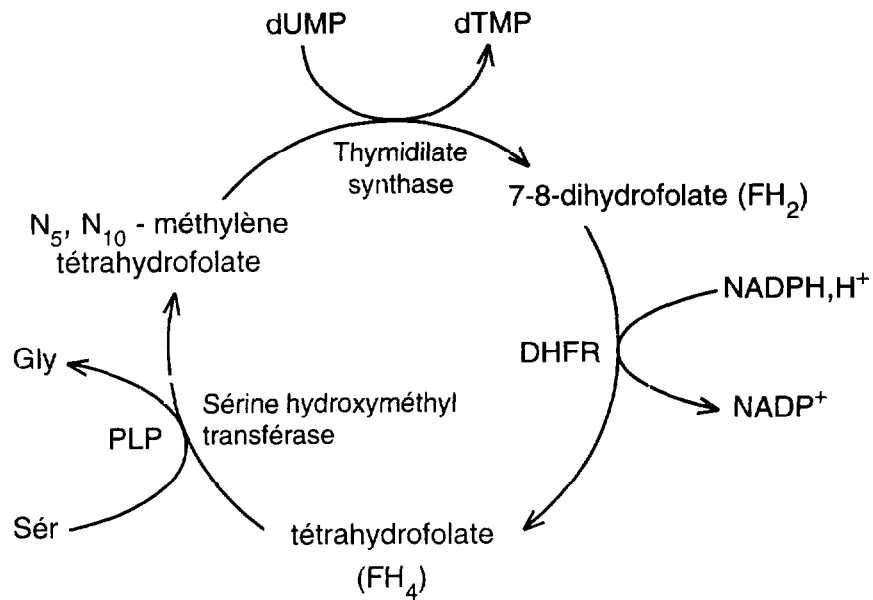


Inhibition compétitive
courbe $K'_m = f([I])$

DOCUMENT N°8

Formules de l'acide folique et des dérivés

**DOCUMENT N°9****DOCUMENT N°10**

DOCUMENT N°11

La synthèse cellulaire du dTMP (désoxythymidine monophosphate)