

AP # 23 suite : L' EXPRESSION DU GENOME : les protéines dans la vie cellulaire & le lien génotype/phénotype : la transcription

QUE CODE LA PLUPART DU TEMPS UN GÈNE ? COMMENT ?

C2	recenser, extraire, saisir l'information utile d'un document
C12	savoir exploiter un logiciel
C26	déduire
C27	interpréter
C18	réaliser un schéma

ACTIVITÉ 1 :

Le phénotype de la maladie héréditaire alcaptonurie consiste en une urine foncée.

1902 : Archibald Garrod décrit la maladie héréditaire alcaptonurie comme « erreur congénitale du métabolisme ».

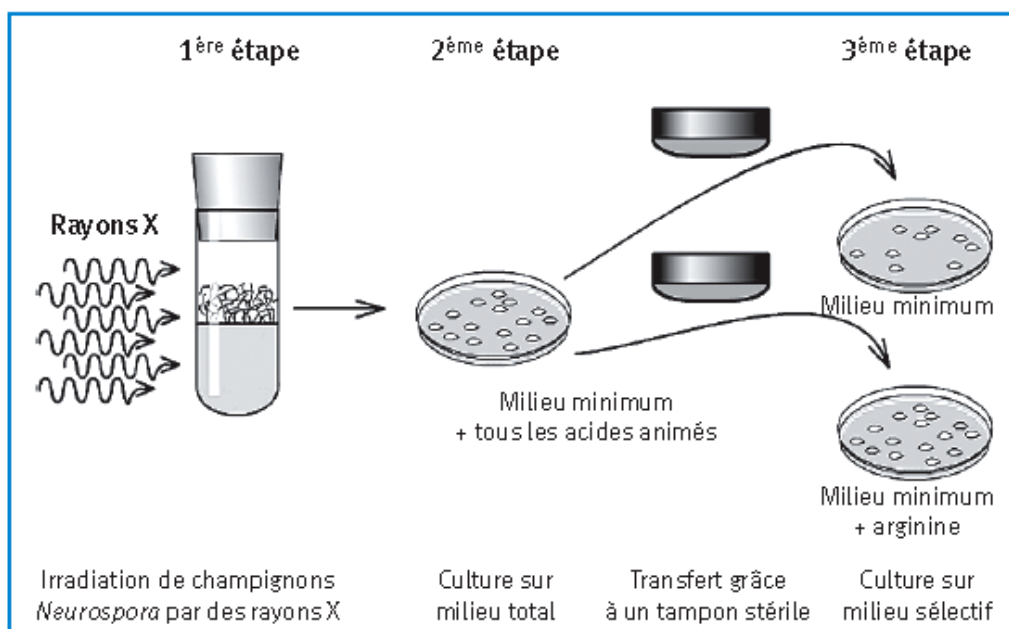
Il émet l'hypothèse suivante : « la mutation d'un gène entraîne un défaut spécifique de la voie métabolique d'élimination des déchets liquides »

1941 : La relation gène-protéine : expérience de Beadle et Tatum

Source : www.lps.ens.fr

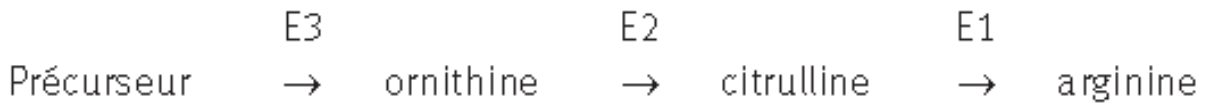
Les 2 chercheurs George Beadle et Edward Tatum ont voulu vérifier l'hypothèse de Garrod avec comme modèle le champignon moisissure **Neurospora Crassa**, un champignon du groupe des moisissures qui peut synthétiser toutes les molécules dont il a besoin, à partir des molécules présentes dans un milieu de culture minimum contenant **sels minéraux, vitamines, sucres et une source d'azote N**. Ils observent que l'irradiation de cette moisissure entraînait la perte de capacité à synthétiser des nutriments indispensables à leur croissance, alors interrompue ou ralentie. Dans leurs expériences, ils ajoutent un supplément moléculaire spécifique à la moisissure mutée, ce qui restaure cette croissance.

Obtention de souches incapables de synthétiser l'arginine (souches Arg-)

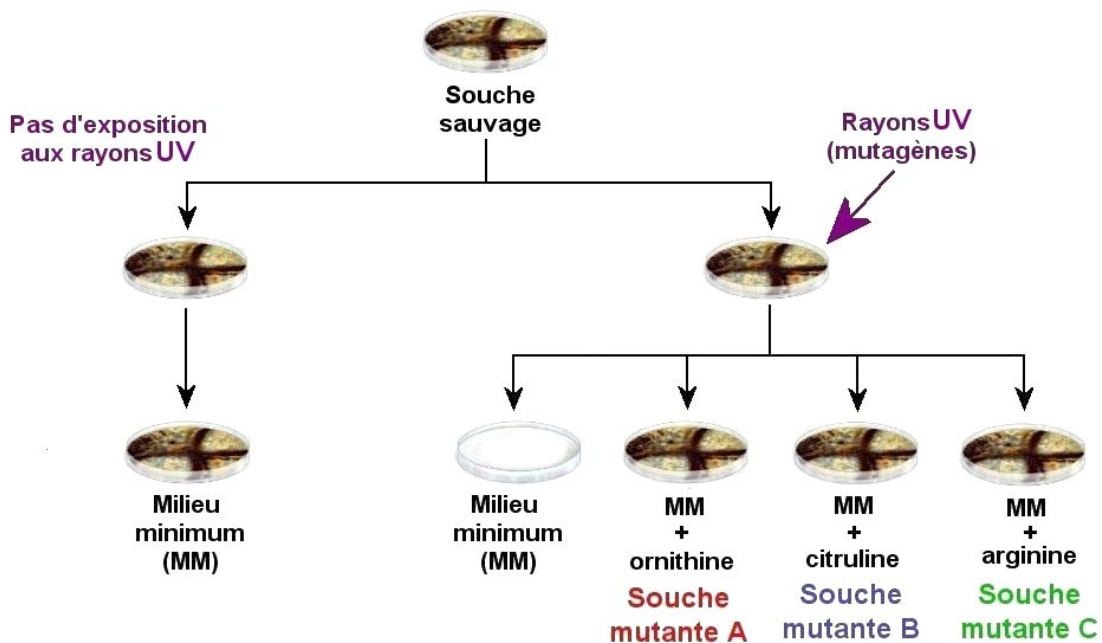


La voie de biosynthèse de l'arginine chez Neurospora

Parmi les substances indispensables à Neurospora, on peut citer les acides aminés. Neurospora synthétise par exemple son arginine à partir d'une substance dite molécule précurseur prélevée dans le milieu minimum et qui est transformée selon la chaîne de réactions suivante :



E1, E2 et E3 désignent les enzymes qui catalysent les différentes étapes de la chaîne de biosynthèse.



MONTREZ PAR UN RAISONNEMENT SCIENTIFIQUE RIGOUREUX, EN QUOI L'EXPÉRIENCE, EN 1941, DE BEADLE ET TATUM A VALIDÉ L'HYPOTHÈSE DE GARROD ET À FORMULER L'HYPOTHÈSE EXPLICATIVE : UN GÈNE CONTRÔLE LA SYNTHÈSE D'UNE ENZYME (DONC D'UNE PROTÉINE PUISQUE LES ENZYMES SONT DES PROTÉINES).

AIDE :

- Expliquer comment Beadle et Tatum ont obtenu des souches de Neurospora incapables de synthétiser l'arginine et comment ils ont fait pour repérer ces souches parmi l'ensemble des souches. Entourez sur le document les colonies correspondant aux souches Arg - .

- Montrer que les phénotypes des souches A, B et C peuvent s'expliquer chacun par l'absence de l'une des enzymes de la voie de biosynthèse de l'arginine

- Indiquer les arguments qui ont conduit Beadle et Tatum à formuler l'hypothèse selon laquelle un gène contrôle la synthèse d'une enzyme (donc d'une protéine)

ACTIVITÉ 2 :

Pour chercher le lieu où s'effectue la synthèse des protéines, on utilise des Acétabulaires, algues unicellulaires de grande taille. Les algues sont mises en présence d'un acide aminé radioactif, la méthionine. Après 30 minutes, l'autoradiographie montre le schéma de la figure a. Le résultat serait identique si les algues étaient ensuite replacées

3 heures dans un milieu « froid », c'est à dire non radioactif.

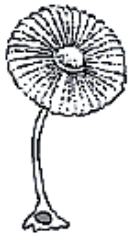
NB : le noyau n'est jamais radioactif.

A partir de ces résultats, retrouvez le lieu de synthèse des protéines. Des Acétabulaires sont mises en culture dans un milieu contenant de la thymine radioactive (une des 4 bases azotées de l'ADN). Au bout de 30 minutes dans ce milieu, l'autoradiographie donne les résultats de la figure b. Après avoir été replacées dans un milieu « froid » pendant 3 heures, la localisation de la radioactivité ne change pas.

MONTREZ, APRÈS AVOIR PRÉCISÉ LE LIEU DE SYNTHÈSE CELLULAIRE DES PROTÉINES QUE CES RÉSULTATS, ET CEUX QUI PRÉCÉDENT, POSENT UN PROBLÈME BIOLOGIQUE QUE VOUS ÉNONCEREZ. COMMENT ET SOUS QUELLE FORME L'INFORMATION GÉNÉTIQUE PASSE-T-ELLE DU NOYAU DANS LE CYTOPLASME, LIEU DE SON EXPRESSION ?

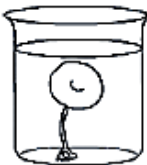
idem avec des cellules animales (autoradiographie avec pulse/ chase et avec acide aminé marqué)

ACTIVITÉ 3 : DOUBLE COLORATION VERT DE MÉTHYLE-PYRONINE



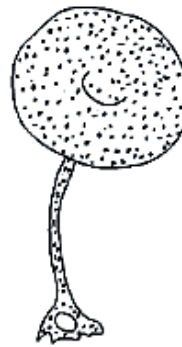
Les Acétabulaires sont des algues vertes unicellulaires.

Elles sont accrochées aux rochers par un pied et elles développent un chapeau circulaire au sommet d'un pédoncule. Le noyau cellulaire est situé dans le pied.



On peut cultiver ces algues dans un aquarium d'eau de mer que l'on éclaire. On peut apporter à l'eau de l'aquarium différentes substances radioactives pour voir où va se localiser la radioactivité dans l'algue.

figure a



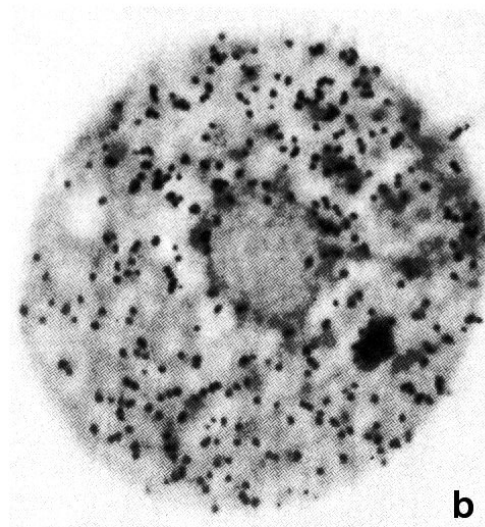
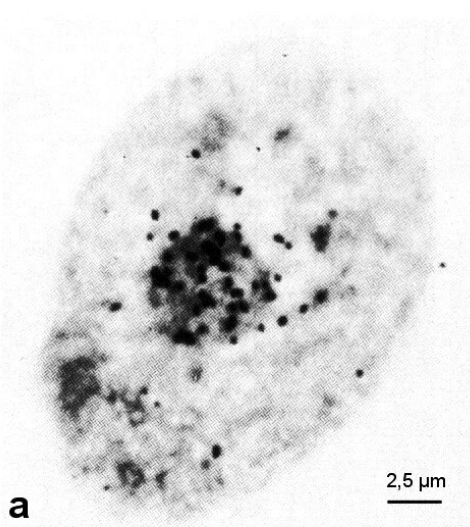
Acétabulaire cultivée avec de la **méthionine** (un acide aminé) radioactive.

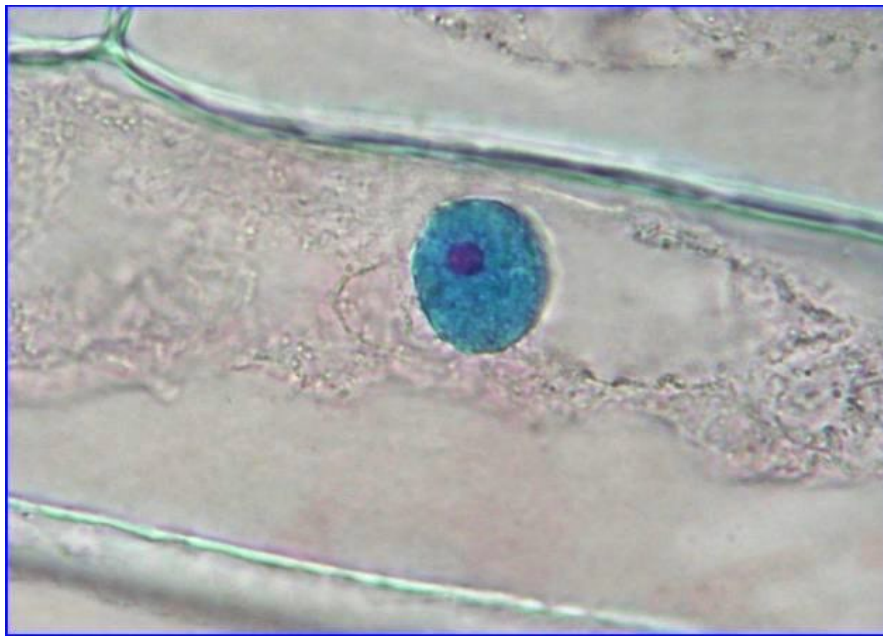
figure b



Acétabulaire cultivée avec de la **thymine** (un des bases de l'ADN) radioactive.

Les points noirs représentent la radioactivité.





Le vert de méthyle colore l'ADN en vert et la pyronine colore l'acide ribonucléique, ou ARN, un composé monobrin assez proche de l'ADN en rose/ rouge.

Image : jean-jacques.auclair.pagesperso-orange.fr

expérience	résultat
on traite une coupe par la ribonucléase, qui détruit (dépolymérise) l'acide ribonucléique	la coloration vert de méthyle-pyronine colore simplement l'ADN restant dans le noyau en vert.
on traite une coupe par la désoxyribonucléase, qui détruit (dépolymérise) l'acide désoxyribonucléique	a coloration vert de méthyle-pyronine colore simplement l'ARN restant dans le noyau en rouge.

Il existe dans les cellules des molécules qui appartiennent au même titre que l'ADN à la famille des acides nucléiques. Ces molécules appelées ARN (acide ribonucléique) ont une structure voisine de l'ADN. Il est possible de repérer l'ADN et l'ARN dans la cellule grâce à 2 colorants spécifiques : le vert de méthyle colore spécifiquement l'ADN en vert et la pyronine colore spécifiquement l'ARN en rose. Le schéma présente des cellules qui produisent beaucoup de protéines, colorées par un mélange de vert de méthyle-pyronine (VMP).

- a. Des érythroblastes de lapin sont cultivés dans un milieu contenant un acide aminé radioactif, l'histidine. Les protéines fabriquées par les érythroblastes sont ensuite extraites et soumises à une électrophorèse qui montre un pic radioactif (X) spécifique de l'hémoglobine de lapin.
- b. On fait incuber des œufs d'amphibien (le xénope) dans un milieu contenant de l'histidine radioactive. L'électrophorèse montre alors deux pics protéiques (Y et Z) spécifiques des protéines produites par les œufs de xénope.
- c. On prélève de l'ARN dans le cytoplasme des érythroblastes de lapin, et on l'injecte dans des œufs de xénope que l'on fait ensuite incuber dans un milieu contenant de l'histidine radioactive. On réalise ensuite une électrophorèse. On observe que les œufs d'amphibien expriment sous forme de protéine l'information apportée par l'ARN des érythroblastes de lapin.

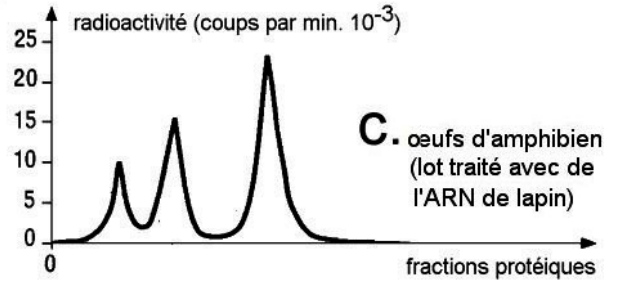
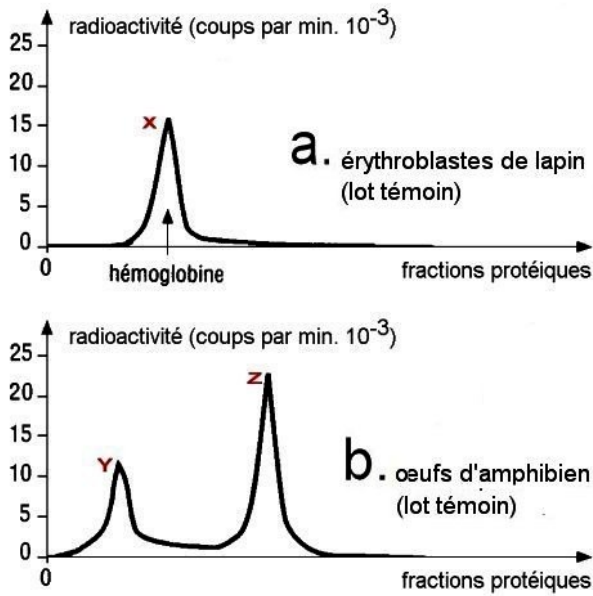
Les érythroblastes sont des cellules de la moelle rouge des os, spécialisées dans la synthèse de l'hémoglobine et donnant naissance aux globules rouges.

L'électrophorèse est une technique de laboratoire qui permet de séparer les protéines d'un mélange en diverses fractions.

Des cellules animales sont cultivées sur un milieu contenant de l'uracile radioactif.

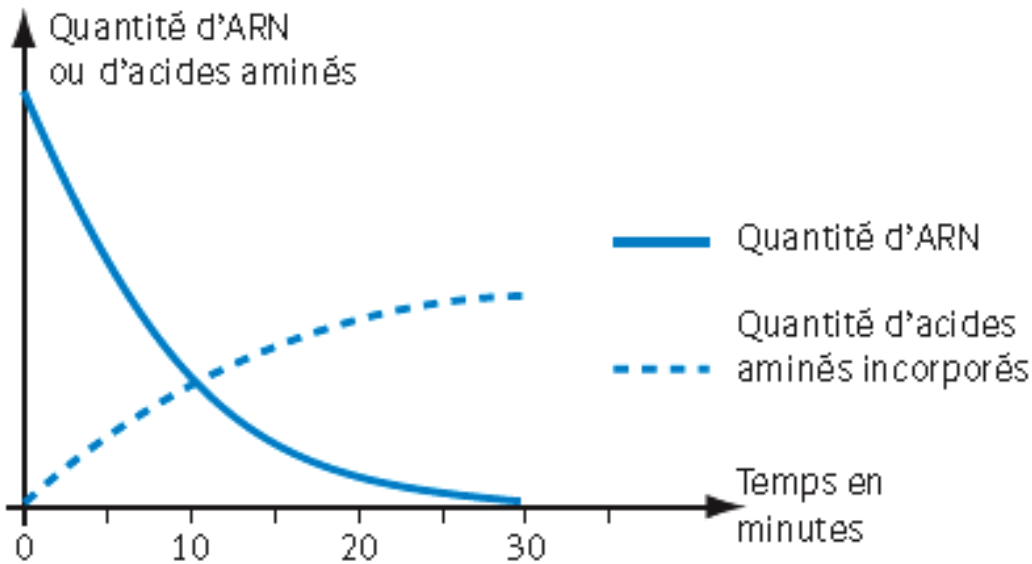
- a. Autoradiographie après culture sur milieu radioactif pendant 15 minutes.
 - b. Autoradiographie après culture sur milieu radioactif pendant 15 minutes puis transfert sur un milieu de culture non radioactif pendant une heure et demie.
- L'ARN est formé dans le noyau (a) mais, contrairement à l'ADN, on le retrouve peu après dans le cytoplasme (b).

Image : www.lfmadrid.net

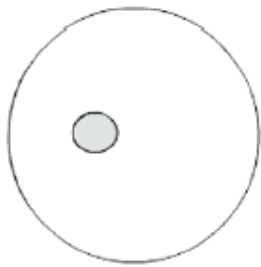


Le microscope électronique (ME) permet d'obtenir des grossissements importants pouvant atteindre 1000 000 fois en biologie.

A partir de cellules vivantes dont la synthèse protéique est active, il est possible d'obtenir des extraits cellulaires contenant tous les types d'organites cytoplasmiques (éléments fonctionnels de la cellule) mais sans ARN ni ADN. De même, on peut préparer à partir du cytoplasme des extraits de solution d'ARN. On a ajouté in-vitro aux extraits cellulaires obtenus des acides aminés et une certaine quantité d'ARN. On a mesuré la quantité d'ARN présent et la quantité d'acides aminés incorporés dans les protéines fabriquées en fonction du temps. Les résultats sont illustrés par le graphique suivant :

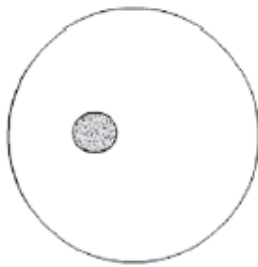


DONNER UN TITRE AU GRAPHIQUE ET L'EXPLOITER POUR EXPLIQUER LA VARIATION DE LA QUANTITÉ D'ACIDES AMINÉS INCORPORÉS DANS LES PROTÉINES SYNTHÉTISÉES.

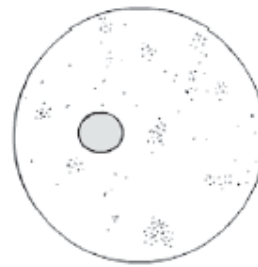


Des

Une cellule est cultivée durant 15 minutes en présence d'un précurseur radioactif de l'ARN.



Après 15 minutes on recherche la radioactivité.



Après 15 minutes de culture sur milieu radioactif on cultive la cellule sur milieu non radioactif. On recherche la radioactivité au bout d'une heure et demie.

autoradiographies de cellules cultivées en présence d'uracile radioactif (précurseur de l'ARN) sont présentées dans le document suivant.

INTERPRÉTER CES EXPÉRIENCES. POURQUOI APPELLE T-ON LES ARN ARN MESSAGERS ?

Comparaison de la séquence des 60 premiers nucléotides l'ADN du gène de la bêtaglobine (betacod.adn) avec l'ARNm correspondant (betacod.arn)

L'ARN a une séquence de nucléotides identique à celle de l'ADN (brin non transcrit, voir ci-après). Seul l'uracile (U) remplace la thymine (T). Il supporte donc la même information.

Traitement obtenu avec le logiciel Anagène

<https://www.youtube.com/watch?v=wu4Ksonj90g>

<https://www.youtube.com/watch?v=VQJKDgpRcnI>

The screenshot shows the 'CNDP-INRP Anagène' software interface. It features a menu bar (Fichier, Edition, Traiter, Informations, Fenêtre, Options, Aide) and a toolbar with various icons. Two main windows are visible:

- Affichage des séquences:** Displays two DNA/RNA sequences side-by-side. The top sequence is 'betacod.adn' with the sequence: 0 ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTG. The bottom sequence is 'betacod.arn' with the sequence: 0 AUGGUGCACCUGACUCCUGAGGAGAAGUCUGCCGUUACUGCCCUGUGGGGCAAGGUGAACGUG. A scale from 0 to 60 is shown above the sequences.
- Comparaison simple:** Shows a simple comparison of the sequences. The top line is 'Traitement' with the text 'Comparaison simple de séquences d'ARN'. Below it, the 'betacod.adn' sequence is shown. The 'betacod.arn' sequence is shown with dashes under the 'U' characters, indicating the substitution of Uracil for Thymine. A scale from 0 to 60 is also present here.

QU'EN DÉDUISEZ-VOUS QUANT AU(X) PROBLÈME(S) POSÉ(S) ?