

74.01B

SESSION 2007

Filière BCPST

BIOLOGIE

Epreuve commune aux ENS de Paris, Lyon et Cachan

Durée : 6 heures

L'usage de calculatrices électroniques de poche à alimentation autonome, non imprimantes et sans document d'accompagnement, est autorisé. Cependant, une seule calculatrice à la fois est admise sur la table ou le poste de travail, et aucun échange n'est autorisé entre les candidats.

SUJET A

Le ‘RNA silencing’ chez les plantes

Le ‘RNA silencing’ correspond à l’extinction de l’expression génique via des interactions séquence-spécifiques impliquant de petites molécules d’ARN simple-brin de 21 à 26 nucléotides. Découvert récemment chez les plantes, ce processus affecte différentes étapes de l’expression du génome selon des mécanismes conservés. Il peut être induit notamment par des ARN non codants exprimés par le génome, appelés microARN.

Au cours du développement floral d’*Arabidopsis thaliana*, l’identité des pièces florales est déterminée par des gènes homéotiques dont la mutation conduit au remplacement de certains organes par d’autres. Parmi ces gènes, les gènes de classe A sont impliqués dans la spécification de l’identité des pièces du périanthe (sépalés et pétales) et les gènes de classe C dans la spécification de l’identité des pièces reproductives (étamines et carpelles). Les mutations *apetala2* et *agamous*, inactivant les gènes *APETALA2* (*AP2*) et *AGAMOUS* (*AG*) qui codent respectivement les protéines AP2 et AG, ont été isolées. Les phénotypes des fleurs mutantes sont donnés à la [Figure 1](#).

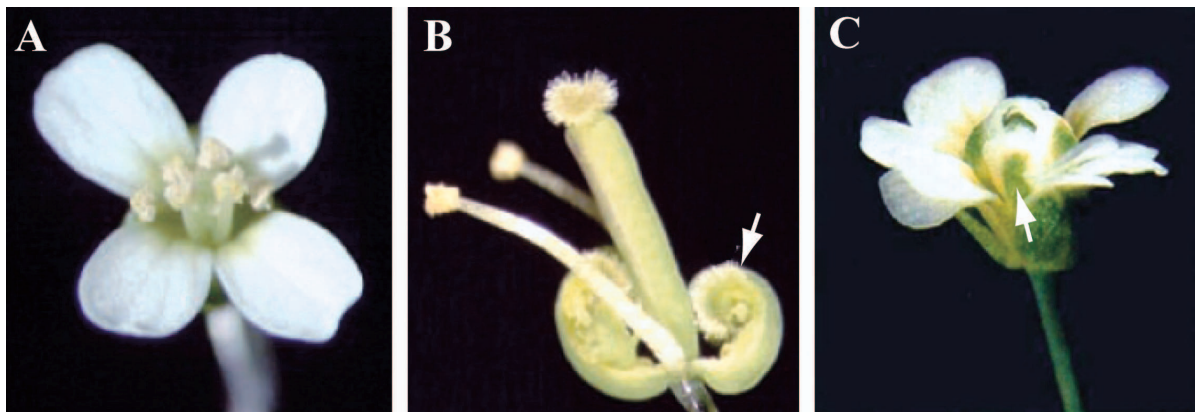


Figure 1. Phénotype des fleurs sauvages (A), des fleurs mutantes *apetala2* (B) et des fleurs mutantes *agamous* (C). Sur la photo B, la flèche pointe un carpelle ; sur la photo C, la flèche pointe un sépale.

Question 1. Analysez ces phénotypes. Précisez la classe des gènes AP2 et AG.

Chez les plantes *apetala2*, la protéine AG s’exprime dans les ébauches de toutes les pièces florales, alors qu’elle n’est présente que dans celles des pièces reproductives des plantes sauvages. Chez les plantes *agamous*, la protéine AP2 s’exprime dans les ébauches de toutes les pièces florales, mais elle n’est présente que dans celles des pièces du périanthe des plantes sauvages.

Question 2. Interprétez ces résultats. Comment interagissent les gènes AP2 et AG ?

L’ARN *MIR172* est un ARN non codant de 21 nucléotides exprimé à partir du gène *MIR172*. L’abondance de l’ARN *MIR172*, de l’ARNm *AP2* et de la protéine AP2 a été analysée dans les inflorescences de plantes sauvages, de plantes *agamous* et de plantes transgéniques exprimant le gène *MIR172* sous le contrôle d’un promoteur fort P (plantes P-MIR172, cf. [Figure 2](#)). Les fleurs des plantes P-MIR172 présentent un phénotype semblable à celui des fleurs *apetala2*.

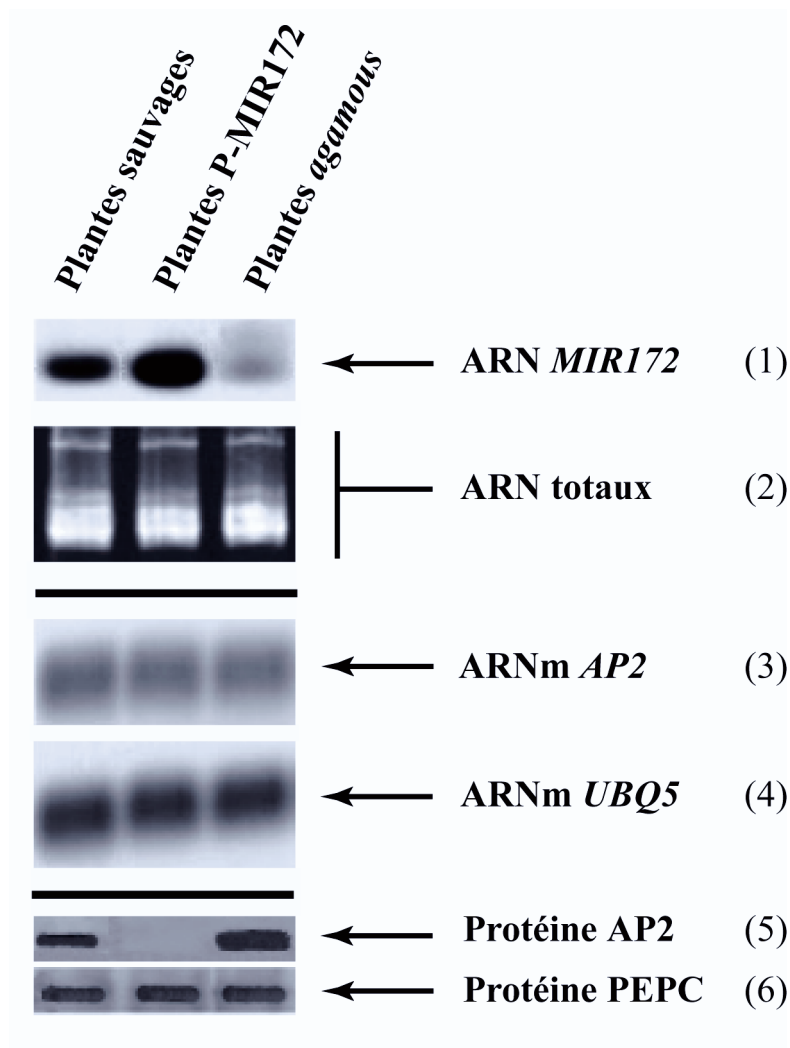


Figure 2. Expression des gènes *MIR172* et *AP2* chez les plantes sauvages, les plantes P-MIR172 et les plantes *agamous*.

Des échantillons d'inflorescence de chaque plante ont été répartis en trois fractions :

- 1) Les ARN totaux extraits à partir de la première fraction ont été séparés par électrophorèse, puis visualisés sous lumière ultraviolette (2). Après transfert de ces ARN sur une membrane, l'ARN *MIR172* a été détecté par hybridation avec un oligonucléotide radiomarqué de séquence complémentaire (sonde *MIR172*). (1)
- 2) Les ARNm extraits à partir de la deuxième fraction ont été séparés par électrophorèse, puis transférés sur une membrane. Les ARNm *AP2* (3) et les ARNm du gène cellulaire contrôle *UBQ5* (4) ont été détectés comme précédemment, à l'aide d'une sonde *AP2* et d'une sonde *UBQ5* respectivement.
- 3) Les protéines extraites à partir de la troisième fraction ont été séparées par électrophorèse en conditions dénaturantes, puis transférées sur une membrane. La protéine *AP2* (5) et la protéine cellulaire contrôle *PEPC* (6) ont été détectées à l'aide d'anticorps spécifiques couplés à une enzyme donnant des produits colorés en présence du substrat adéquat.

Question 3. Comparez les profils d'expression des gènes *MIR172* et *AP2* chez les plantes sauvages et P-MIR172. Que concluez-vous ? Comment expliquez-vous le phénotype des plantes P-MIR172 ?

Question 4. Analysez et interprétez les profils d'expression des gènes *MIR172* et *AP2* chez les plantes *agamous*. Comment expliquez-vous le phénotype de ces plantes ?

Question 5. Construisez à partir des informations obtenues jusqu'ici un schéma de régulation reliant les gènes *AG*, *AP2* et *MIR172*.

La séquence de l'ARN *MIR172* est complémentaire d'une courte région de l'ARNm du gène *AP2* (cf. [Figure 3A](#), page 7). Les gènes *AP2* ou *AP2m* (gène *AP2* présentant des mutations dans la région de complémentarité avec l'ARN *MIR172*, cf. [Figure 3A](#)) placés sous le contrôle d'un promoteur fort P, ont été introduits artificiellement dans des plantes sauvages, de façon à obtenir des plantes transgéniques (plantes P-*AP2* et plantes P-*AP2m* respectivement). Les fleurs des plantes P-*AP2* présentent le même phénotype que les fleurs sauvages alors que celles des plantes P-*AP2m* sont comparables aux fleurs *agamous*. La quantité d'ARNm *AP2* et de protéine *AP2* présente dans les inflorescences de ces plantes et des plantes sauvages a été étudiée (cf. [Figure 4](#)).

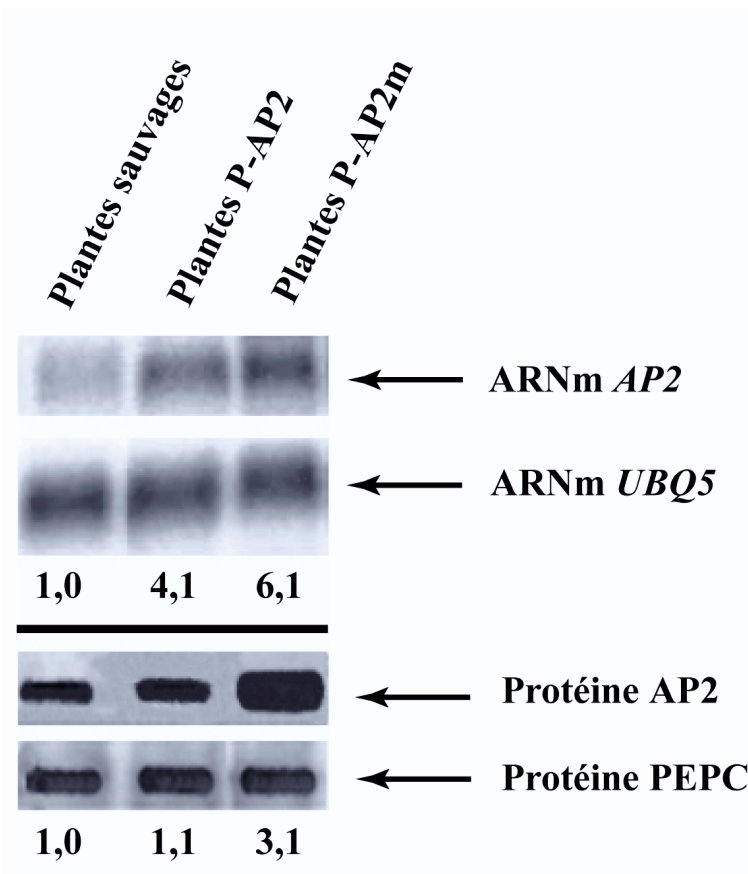


Figure 4. Expression du gène *AP2* chez les plantes sauvages et chez les plantes transgéniques P-*AP2* et P-*AP2m*. Des échantillons d'inflorescence de chaque plante ont été analysés selon le même protocole que précédemment (cf. [Figure 2](#)). Les nombres en dessous de chaque piste représentent les valeurs de la quantité d'ARNm *AP2* ou de protéine *AP2* normalisées respectivement par rapport à l'ARNm *UBQ5* ou à la protéine PEPC, puis rapportées aux valeurs obtenues chez les plantes sauvages.

Question 6. A l'aide du code génétique donné à la [Figure 3.B](#), précisez le type de mutations introduites dans le gène *AP2m*. Quel est l'intérêt d'avoir introduit ces mutations ?

Question 7. Analysez et interprétez les résultats obtenus avec les plantes P-*AP2*, puis avec les plantes P-*AP2m*. Concluez quant à l'effet régulateur de l'ARN *MIR172* chez les plantes sauvages.