

BIOLOGIE 2 (durée conseillée : 1h30)

Les 3 parties du sujet sont totalement indépendantes.

ORIGINES ET CONSEQUENCES DES MUTATIONS : ETUDE D'EXEMPLES

Partie 4 - Origines moléculaires des mutations (2,5 points)

Alors qu'ils représentent plus de 90 % du rayonnement UV qui atteint la surface de la Terre, les éventuels effets des UVA sur l'ADN sont bien moins connus que ceux des UVB (et C).

On cherche à révéler et quantifier d'éventuelles lésions provoquées par les UVA sur des fragments d'ADN quelconques. Pour cela, l'anticorps anti-CPD est utilisé pour sa capacité à repérer spécifiquement et ainsi quantifier les dimères cyclobutylthymines (CPD, ou dimères de thymines) : les anticorps anti-CPD se fixent spécifiquement sur les dimères de thymines de l'ADN.

Question 4 : En comparant les images A et B de la figure 13, mettez en évidence un premier effet des UVA sur l'ADN.

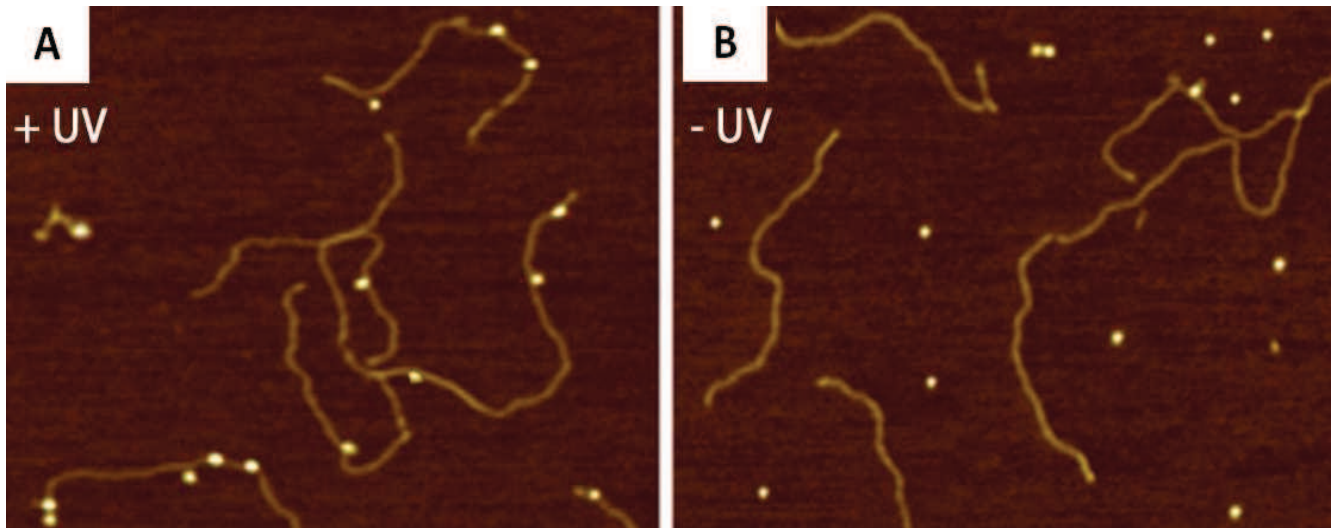


Figure 13 : Fragments d'ADN purifiés et incubés en présence d'anticorps anti-CPD. A gauche (A), des fragments purifiés d'ADN (vierges de toute protéine cellulaire) ont été exposés aux UVA (6 MJ.m^{-2}), puis incubés avec les anticorps anti-CPD. A droite (B), des fragments identiques d'ADN, également purifiés mais non exposés aux UVA, ont été incubés avec la même quantité d'anticorps anti-CPD. Aucun lavage n'est réalisé entre l'incubation et l'observation des résultats. Dans la technique d'imagerie utilisée, l'ADN apparaît sous forme de filaments fins et les anticorps sous forme de petits spots globulaires et lumineux. Chaque image représente un secteur de $1 \mu\text{m}^2$.

D'autres effets des UVA sur l'ADN sont recherchés. La même expérience est reproduite et quantifiée, mais en utilisant en parallèle l'enzyme T4 endonucléase V (notée T4-EN-V). Cette enzyme est utilisée pour sa capacité à se fixer sur l'ADN, à la fois au niveau des dimères de thymines et des sites apuriques (sites formés suite à une dépurination), avec une haute spécificité mais sans discernement entre ces deux types de lésions (figure 14a). Enfin, des plasmides bactériens purifiés et exposés ou non aux UVA sont observés pour tester l'influence des UVA sur la topologie de l'ADN (figure 14b).

Figure 14a : Fixation des enzymes T4-EN-V ou des anticorps anti-CPD sur de l'ADN purifié, exposé ou non aux UVA

Des fragments identiques d'ADN sont purifiés, exposés ou non aux UVA (1 MJ.m^{-2}) puis incubés en présence de T4-EN-V ou de l'anticorps anti-CPD.

Les résultats sont exprimés en nombre de molécules (enzymes T4-EN-V ou anticorps anti-CPD) fixées sur l'ADN par millions de paires de bases, et sous forme de moyennes accompagnées des écarts types, après plusieurs expériences.

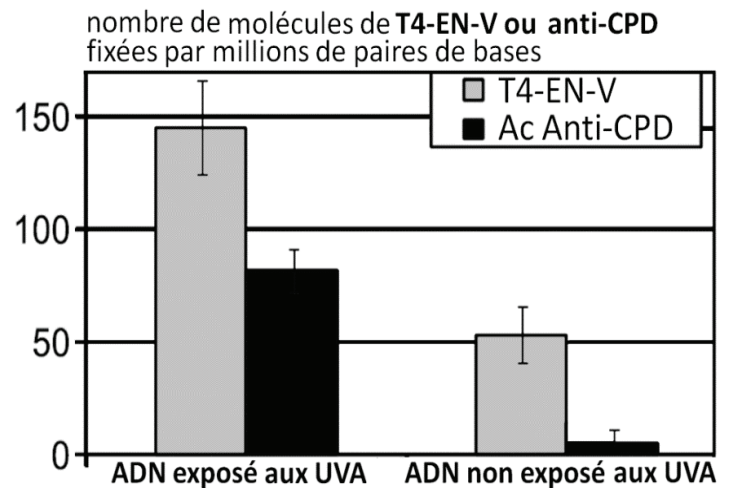
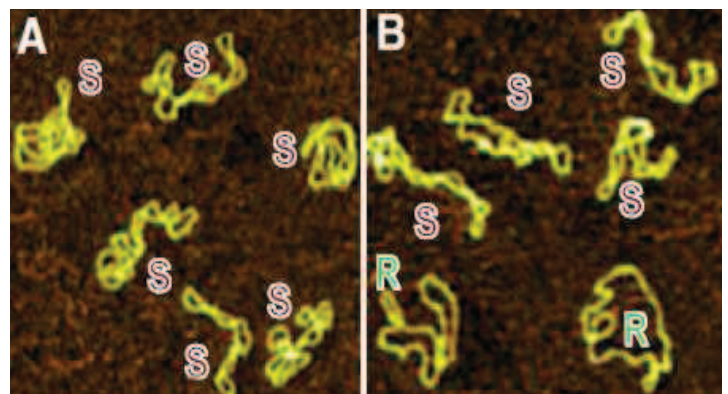


Figure 14b : Effet des UVA sur la topologie de l'ADN

A : Plasmides circulaires bactériens purifiés
B : Plasmides circulaires bactériens purifiés et exposés aux UVA (1 MJ.m^{-2} , 8h)

Les plasmides se présentent sous deux états, notés S et R dans la figure.

A et **B** : Les images représentent un secteur de $0,5 \times 0,5 \mu\text{m}^2$ et ont été choisies pour être représentatives de l'ensemble des résultats de l'expérience.



Question 5 :

5a. A l'aide de la figure 14a, mettez en évidence un autre effet des UVA sur l'ADN. Discutez des origines des deux lésions mises en évidence.

5b. Interprétez la figure 14b pour mettre en évidence un troisième effet des UVA sur l'ADN.

Partie 5 - Conséquences des mutations à l'échelle cellulaire (2,5 points)
(modèle : kératinocytes humains)

Pour rechercher d'éventuelles conséquences des lésions de l'ADN à l'échelle cellulaire chez l'Homme, une batterie de tests est réalisée sur une culture *in vitro*, à faible densité cellulaire, de kératinocytes (cellules de l'épiderme) humains. Ceux-ci sont préalablement exposés à un rayonnement UVA. On quantifie ensuite le nombre de dimères de thymines (figure 15a), la capacité de prolifération (figure 15b) et le pourcentage de cellules dans telle ou telle phase du cycle cellulaire (tableau 15c).

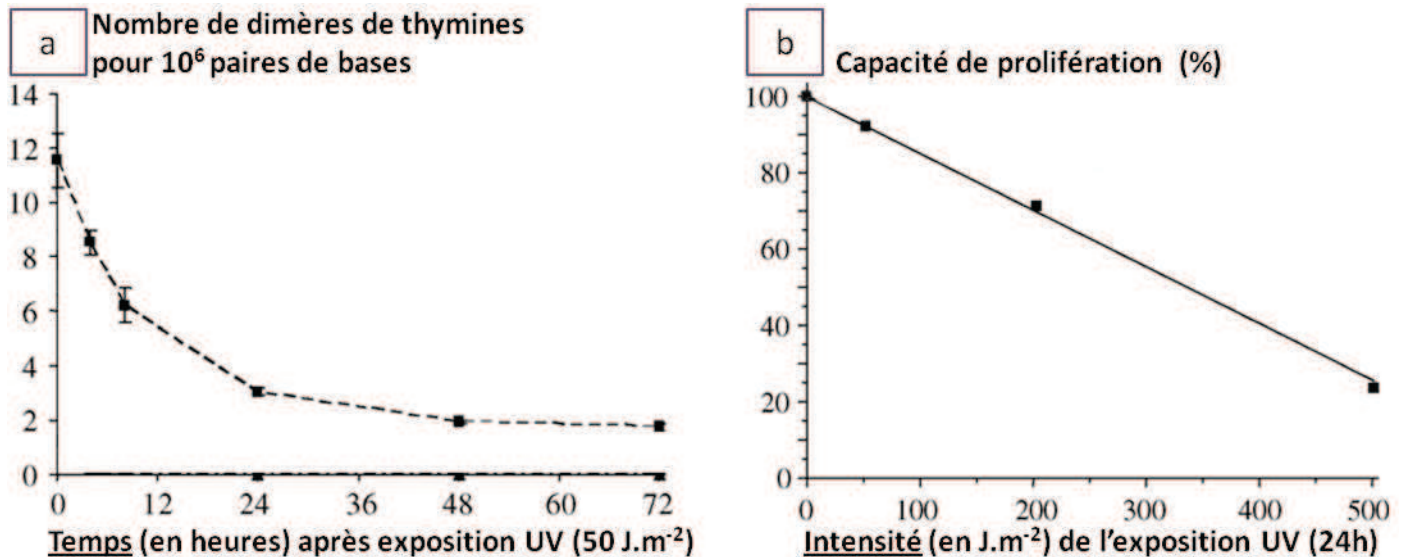


Tableau 15c	G1 (%)	G2 + S + M (%)	SubG1* (%)
Témoin	49	50	1
+ UVA (500 J.m^{-2} , 24h)	55	30	15

Figure 15. Réponses des kératinocytes humains cultivés *in vitro* à faible densité suite à une exposition aux UVA. **a** : Les dimères de thymines dans l'ADN sont quantifiés au cours du temps après l'arrêt de l'exposition aux UVA (moyenne de 3 expériences, les barres d'erreur à peine visibles sont les écarts-types). **b** : Capacité de prolifération des kératinocytes 24 heures après exposition aux UVA à intensités variables. **c** : Répartition en % des populations cellulaires dans les différentes étapes du cycle cellulaire, pour une culture cellulaire non exposée aux UV (Témoin) et pour une culture cellulaire préalablement exposée aux UVA (+ UVA). Les résultats sont des moyennes de plusieurs expériences. **b** et **c** : les écarts-types, systématiquement inférieurs à 1%, ne sont pas indiqués.

* Les cellules en phase SubG1 sont caractérisées par une quantité d'ADN anormalement plus faible que les cellules en phase G1.

Question 6 : Rappelez, sous la forme d'un graphe présentant les variations de la quantité d'ADN par cellule au cours du temps, les étapes du cycle cellulaire dans le cas d'une cellule eucaryote somatique diploïde (les indications de la durée des étapes du cycle cellulaire ne sont pas attendues).

Question 7 :

7a. Quelle activité moléculaire est mise en évidence par le graphe a de la figure 15 ?

7b. Interprétez les résultats reportés dans le graphe b et le tableau c de la figure 15.

7c. Sachant que la durée du cycle cellulaire d'un kératinocyte humain cultivé *in vitro* dans ces conditions, sans exposition aux UV, est de l'ordre de 16 heures, estimez d'après les données du tableau c de la figure 15 la durée de la phase G1 dans ces cellules.