

Devoir surveillé n°6

Samedi 28 mars 2026

Épreuve d'analyse de documents de biologie

Thème 1 – L'activation des bactéries *Listeria* dans l'intestin

1) Effet de la température sur l'expression de la protéine PrfA

Question 1 – Comment appelle-t-on une telle construction ? Quelle est son utilité ?

Il s'agit d'un gène **chimère** ou **mosaïque**. La protéine GFP étant fluorescente, l'apparition de fluorescence résulte de l'expression du gène *gfp*, activé simultanément avec le gène *prfA*. La fluorescence indique donc une expression de *prfA*. Le gène *gfp* est donc un gène **rapporteur**.

Question 2 – Indiquez l'intérêt des clichés 2 et 4.

Ils valident la présence de bactéries dans le secteur observé à 395 nm. Sans ces clichés, une absence de fluorescence pourrait être interprétée comme une absence de bactéries dans le champ observé, en non comme une absence d'expression de *prfA*.

Question 3 – Décrivez les résultats obtenus et déterminez l'effet de la température sur l'expression de la protéine PrfA. Proposez deux hypothèses sur le niveau d'action de la température.

À 30°C, les bactéries visibles en contraste de phase ne sont pas fluorescentes : la protéine GFP n'est donc pas exprimée, donc PrfA non plus. À 37°C, les bactéries présentent une forte fluorescence de la protéine GFP : la protéine PrfA est donc exprimée.

L'expression de la protéine PrfA est activée à 37°C mais inhibée à 30°C. La température agirait sur la transcription (hypothèse 1) ou la traduction (hypothèse 2) ou encore les deux.

Question 4 – Déterminez, en le justifiant, l'étape de l'expression génétique contrôlée par la température.

L'ARNm de PrfA est présent en égales quantités à 20°C et 37°C : la **transcription** du gène *prfA* est donc indépendante de la température.

La protéine PrfA est absente des bactéries à 20°C et à peine détectée (6% du maximum) à 30°C. Par contre, elle est visible à 37°C.

On peut en déduire que l'étape de **traduction** est bloquée à basse température. La température agit sur la traduction. Il ne peut pas s'agir de maturation de l'ARNm puisque *Listeria* est une Eubactérie.

Question 5 – D'une manière générale, quel est l'effet de la température sur la structure secondaire des acides nucléiques ? Justifiez votre réponse.

Les acides nucléiques établissent des segments à structure secondaire, par association de 2 brins complémentaires. La température intervient dans cette structure secondaire car les liaisons mises en jeu sont des liaisons hydrogènes à faible énergie. Une hausse de température, induisant une forte agitation moléculaire, brise les liaisons H et rompt les doubles hélices des acides nucléiques, conduisant à des molécules monocaténares.

Question 6 – Reliez la structure de l'ARNm à la présence de la protéine PrfA, en fonction de la température. En quoi cette régulation génétique est-elle originale ?

Les images de cristallographie montrent que l'ARNm de PrfA présente une épingle à cheveux en 5', là où débute la traduction des protéines. À 30°C, l'épingle à cheveu est «solide» et masque le site de liaison au ribosome : la traduction est donc impossible.

À 37°C, l'agitation moléculaire rompt la portion bicaténaire de l'épingle à cheveu et rend accessible la séquence de fixation du ribosome donc autorise la traduction de PrfA.

C'est une régulation originale car elle se fait simplement en fonction de la température, sans aucun acteur cellulaire. Seule la température détermine si la traduction a lieu ou non, grâce à cette séquence 5' bien particulière.

2) Action de la protéine PrfA sur l'expression des gènes de virulence

Question 7 – Nommez cette technique d'analyse génétique.

Il s'agit d'un retard sur gel.

Question 8 – Analysez précisément les pistes 1, 2, 3 et 5 du gel obtenu. Déduisez-en l'activité de PrfA.

La piste 1 correspond uniquement à l'ADN du fragment *hly* 28pb. Rien n'est observé sur la piste : le fragment, de petite taille, est probablement sorti du gel.

La piste 2 montre une bande d'ADN qui a peu migré. Les conditions étant non dénaturantes, cet ADN a été alourdi par sa liaison avec un élément. La seule différence avec la piste 1 est l'ajout de PrfA. On peut donc visualiser ici des fragments *hly* 28pb liés à PrfA.

Les pistes 3 et 5 présentent en forte quantité la même bande que la piste 2. La souche de *Listeria* utilisée n'est pas déficiente en PrfA. On peut donc en déduire que les bactéries *Listeria* sauvages contiennent la protéine PrfA à 37°C, et que PrfA se lie en amont du gène de virulence *hly*.

Question 9 – Que montre la piste 4 ? Quel est l'intérêt de cet essai ?

La piste 4 montre que si on ajoute un anticorps spécifiquement dirigé contre PrfA, la bande d'ADN est encore plus ralentie, donc alourdie par le poids et l'encombrement de l'anticorps. Cela certifie donc que l'élément lié au fragment *hly* 28pb est bien la protéine PrfA.

Question 10 – Exposez le principe du footprinting.

Le footprinting est une technique permettant de localiser la fixation d'une protéine (ou autre molécule) sur une séquence d'ADN. Pour cela, un fragment d'ADN est soumis à l'action d'une enzyme provoquant des coupures dans l'ADN, de manière aléatoire et modérée. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse.

La séquence où se lie la protéine étudiée est protégée de l'hydrolyse.

Il manque alors les fragments correspondant à la séquence d'ADN couverte par la protéine : on visualise donc indirectement la fixation de la protéine.

Question 11 – Interprétez le gel obtenu.

La piste 0 sert de témoin : on y visualise de nombreuses bandes d'ADN, correspondant à tous les segments possibles après hydrolyse. En ajoutant PrfA, on observe qu'à partir de 100 ng de protéine, l'ADN est protégé entre les nucléotides -58 et -33 avant la TATAbox. On y reconnaît la séquence autour de -40 : c'est une **séquence de régulation**, sur laquelle PrfA se lie de façon spécifique.

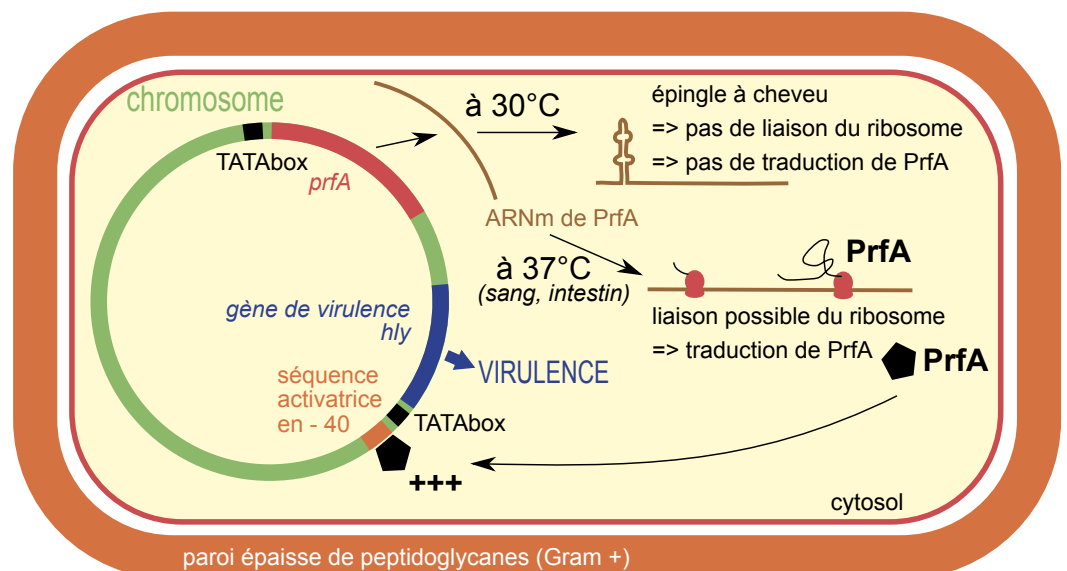
Question 12 – Formulez une hypothèse sur le mode d'action de la protéine PrfA. Comment pourriez-vous qualifier cette protéine ?

La fixation de PrfA induit une augmentation de l'expression des gènes de virulence. PrfA pourrait favoriser le complexe d'initiation au niveau des gènes de virulence et donc augmenter le taux de transcription.

PrfA est une protéine activatrice, de type facteur de transcription spécifique, induit par une température de 37°C.

BILAN

Question 13 - Réalisez un schéma résumant l'activation et le mode d'action de la protéine PrfA.



Bactérie *Listeria*

Thème 2 – Les myokines et la mémorisation

2.1 La CTSB, une myokine étudiée *in vitro*

Question 1 – Comparer les deux pistes. Conclure quant à l'origine probable de la protéine CTSB.

La quantité totale de protéines dans les milieux de culture des deux lots est équivalente. Cependant, la quantité de CTSB est bien plus marquée dans le lot avec AICAR, donc pour des cellules ayant été stimulée. Cette protéine serait donc sécrétée par les cellules musculaires en activité.

Question 2 – Analyser la figure 2A. En déduire l'effet de l'activité musculaire sur l'expression du gène *ctsb*.

La transcription de *ctsb* est quasiment doublée après 3h d'action de l'AICAR puis elle revient à sa valeur initiale. L'AICAR simulant une activité musculaire, cette dernière activerait la transcription du gène *ctsb*.

Question 3 – Indiquer l'intérêt de la ligne β -Actin sur le gel du Western blot présenté en figure 2B.

La β -Actin est une protéine exprimée de façon conservée dans toutes les cellules : sa quantité est équivalente dans tous les lots. La ligne β -Actin est donc utilisée afin de valider qu'une quantité équivalente de protéines a été déposée dans le gel de protéine : son égale intensité observée ici autorise à réaliser une comparaison quantitative de la protéine CTSB au cours du temps.

Question 4 – Identifier la contradiction soulevée par la figure 2B. Relier ce fait à la question 1 et expliquer les étapes du processus induit par l'activité de la cellule musculaire.

La figure 2A a montré une hausse de la transcription du gène *ctsb* au bout de 3h. Cependant, la quantité de protéine CTSB intracellulaire ne varie pas dans le temps car on n'observe pas de différence significative de 0 à 24h après ajout d'AICAR : cette contradiction peut être levée en proposant une sécrétion de la protéine CTSB synthétisée au fur et à mesure de sa production.

Donc activité musculaire => activation de la transcription de *ctsb* => hausse de la production de CTSB qui est alors sécrétée dans le milieu extérieur.

Question 5 – Indiquer, en le justifiant, si la figure 3 confirme, ou non, le scénario proposé à la réponse 4.

La figure 3 montre que la concentration de CTSB dans le milieu extracellulaire augmente de manière significative entre 6 et 12h après l'ajout d'AICAR. Ceci confirme le scénario de production suivi par une sécrétion de CTSB par des cellules musculaires en activité.

2.2 Étude *in vivo* de la CTSB

Question 6 – Analyser et interpréter la figure 4. Justifier l'importance d'une telle étude.

La concentration de CTSB plasmatique augmente au fur et à mesure du temps d'entraînement des souris. La différence est significative au bout de 14 jours : les souris ayant pu courir présente environ 20 % de CTSB en plus que les souris sédentaires. La différence atteint 25 à 30 % de plus au bout de 30 jours. Cette hausse semble liée à une expression significativement accrue (x 5) de la transcription du gène *ctsb* dans les cellules musculaires des souris sportives.

Cette étude *in vivo* est importante car elle porte sur des souris et non sur une culture *in vitro* de cellules. Les résultats observés en culture semblent concorder avec les situations réelles de l'activité sportive.

2.3. Effets de la CTSB sur les capacités cognitives

Question 7 – Que pensez-vous de l'expression des gènes codant pour les protéines BDNF, P11 et DCX situées respectivement dans les cases A11, F2 et B8 du tableau ?

La protéine CTSB active l'expression de ces 3 gènes, d'un facteur presque 10.

Question 8 – Définir un ARN interférent. Indiquer la conséquence de son injection dans les cellules NPC.

Un ARN interférent est un ARN dont la séquence est complémentaire d'un ARNm cible dont il va bloquer la traduction, en s'hybridant avec lui, générant une portion bicaténaire illisible par un ribosome.

Son injection dans les cellules NPC va supprimer la production de P11, qui sera alors absent des cellules.

Question 9 – Commenter brièvement les résultats avec ARNi SCR, en les reliant avec ce qui précède.

Avec l'ARNi SCR, aucune traduction n'est bloquée. On retrouve bien ici une augmentation de la quantité de DCX, donc la quantité est x3 par rapport au témoin, sous l'effet de la protéine CTSB.

Question 10 – Conclure quant au rôle de P11 sur l'expression de DCX.

Lorsque P11 est absent des cellules NPC, la protéine CTSB n'a plus son effet activateur du gène *dcx*. P11 est donc une protéine indispensable à l'action de CTSB. Or P11 est stimulé par CTSB. Donc il est possible d'imaginer une cascade d'activation : CTSB active l'expression de P11 qui active l'expression de DCX.

Question 11 – Préciser si la figure 7 permet de valider le rôle de P11 sur DCX. Proposer une autre hypothèse expliquant les résultats de la figure 7.

Les résultats concordent avec ce qui précède : sans P11 (lot avec l'ARNi P11), donc en absence de DCX impliqué dans le cytosquelette et son action positive sur la migration, les cellules n'ont pas migré.

On pourrait aussi faire l'hypothèse d'une action directe de P11 sur la migration cellulaire : son absence bloquant le déplacement des cellules NPC.

2.4. Effets de la CTSB sur les capacités cognitives de la souris

Question 12 – Expliquer ce qu'est une souris KO pour *ctsb*.

Une souris KO pour *ctsb* n'exprime plus le gène ou bien conduit à une protéine non fonctionnelle.

Question 13 – Analyser la figure 8 et conclure.

Quelque soit le lot testé, les souris trouvent chaque jour plus rapidement la plateforme pour sortir de l'eau : leur temps de nage oscille autour de 50s au premier jours et environ 25 s après une semaine. Elles ont donc mémorisé l'emplacement de la plateforme.

Les différences entre lots ne sont pas significatives sur toute la durée de l'expérience.

Au bout de 7 jours, les souris KO prennent quelques secondes de plus que les souris WT mais les différences ne sont pas nettes 2 à 2.

Question 14 – Analyser la figure 9 et conclure quant à l'importance de la protéine CTSB.

Les souris KO passent un temps équivalent dans les 4 secteurs du bassin (il n'y a de différence significative qu'avec le secteur gris foncé, pourtant contigu au rouge) : cela témoigne d'un « oubli » de la zone où était située la plateforme.

Après 24 h de pause, les souris WT nagent plus longtemps dans le secteur rouge : environ 30 s soit 2 fois plus que dans le secteur à gauche et 4 fois plus que dans les 2 secteurs gris foncés. Elles ont donc mémorisé où se situe la plateforme.

Après 48h de pause, seules les souris ayant pratiqué une activité physique se souviennent du secteur de la plateforme puisqu'elles y passent 25 s. Le secteur rouge ne se distingue pas de manière significative pour les souris sédentaires.

Conclusion : la protéine CTSB augmente le processus de mémorisation à long terme.