

Devoir n°5 – SVT

Eléments de correction

I. Géologie (durée conseillée : 1h15)

La vallée du grand Rift est une région d’Afrique de l’Est. On va voir ici quelques événements géologique qui ont lieu dans cette région.

Question 1.

a. Définissez la notion de plaque.

Une **plaque** est une portion de **lithosphère** considérée comme rigide, et qui est animée d’un mouvement latéral (et éventuellement horizontal) par rapport aux autres plaques. Les plaques sont essentiellement définies par leurs limites, qui sont convergentes (chaîne de montagne, subduction...), divergente (dorsale...) ou décrochantes (failles transformantes...).

b. A l’aide du document 1A, discutez les limites de plaques telles qu’elles sont présentées dans le document 1B.

D’après le document 1B, le continent africain est intégralement compris dans une seule plaque : la plaque africaine. Or, l’Est de l’Afrique montre (document 1) de nombreux séismes, qui pourraient permettre de définir une plaque « Afrique de l’Est » ou « Corne de l’Afrique » qui serait indépendante du reste de la plaque africaine.

Question 2.

a. Réalisez un schéma interprétatif de la photographie du document 2, en insistant sur la nature des déformations constatées et les mouvement horizontaux à l’origine de ces déformations.

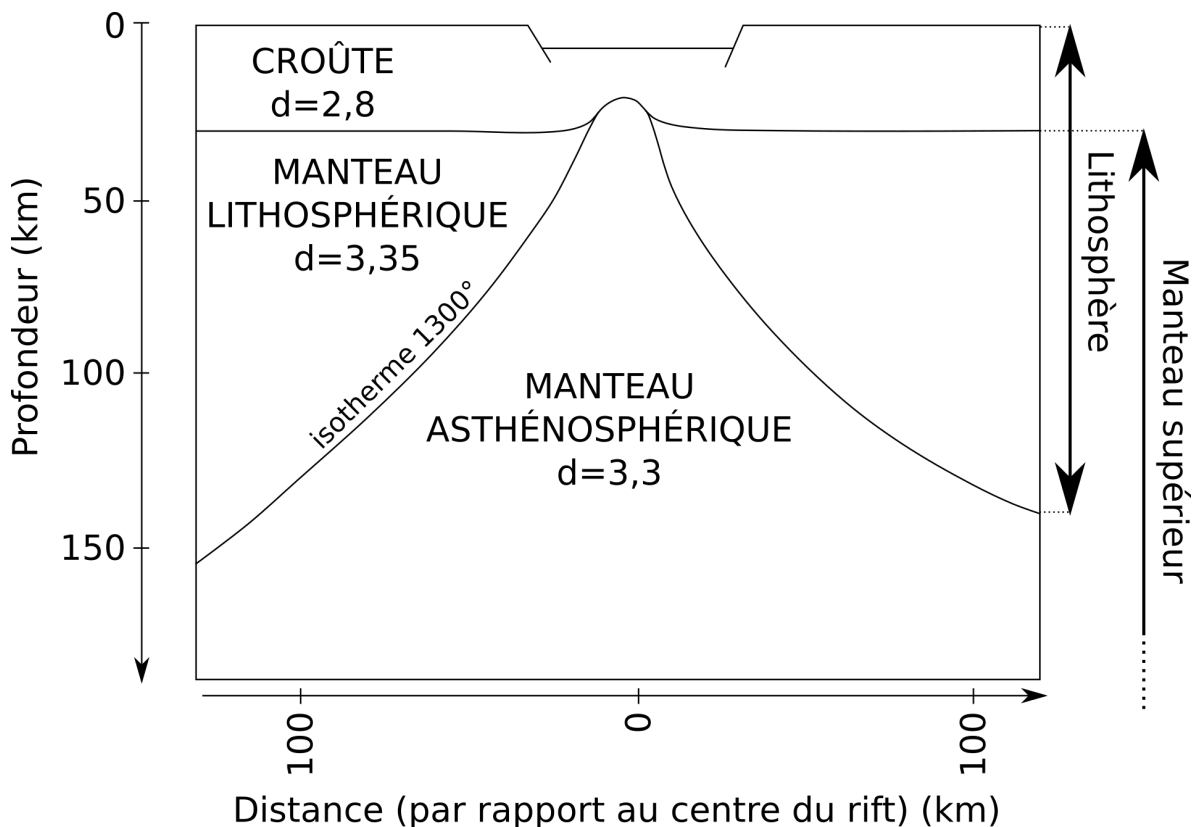


b. Que nous apporte ce document dans compréhension de la géologie de la région ?

On observe de nombreuses failles normales. En supposant que ces structures ne soient pas seulement locales, la région est soumise à une extension. Cela pourrait permettre d’expliquer la limite de plaque supposée en Afrique de l’Est.

Question 3.

a. Sur la modélisation du document 3 (bas), légendez avec les concepts suivants : croûte, lithosphère, asthénosphère, manteau supérieur et manteau lithosphérique.



b. On rappelle les densités suivantes : manteau lithosphérique (3,35), asthénosphère (3,30), croûte continentale (2,8). **Décrivez et analysez les anomalies de Bouguer à grande longueur d’onde (à l’échelle de la région) ou à petite longueur d’onde (à proximité du centre du Rift).**

A grande longueur d’onde : l’anomalie de Bouguer est négative, et décroît plus on se rapproche du Rift, de façon quasiment symétrique. Cette anomalie de Bouguer de plus en plus négative permet de postuler l’existence d’un défaut de masse de plus en plus important en profondeur, c’est-à-dire le remplacement d’un matériau dense par un matériau peu dense. Vu la question précédente, on voit que, bien que la croûte ait une épaisseur constante, le manteau lithosphérique est remplacé par de l’asthénosphère, moins dense : cela explique cette anomalie de Bouguer.

A petite longueur d’onde : l’anomalie de Bouguer, bien que toujours négative, admet un maximum relatif à proximité du centre du Rift. On peut donc l’interpréter comme un excès de masse local ; il peut être expliqué par l’amincissement de la croûte, peu dense, qui est remplacée par du manteau (lithosphérique en périphérie, asthénosphérique au centre), plus dense.

Question 4.

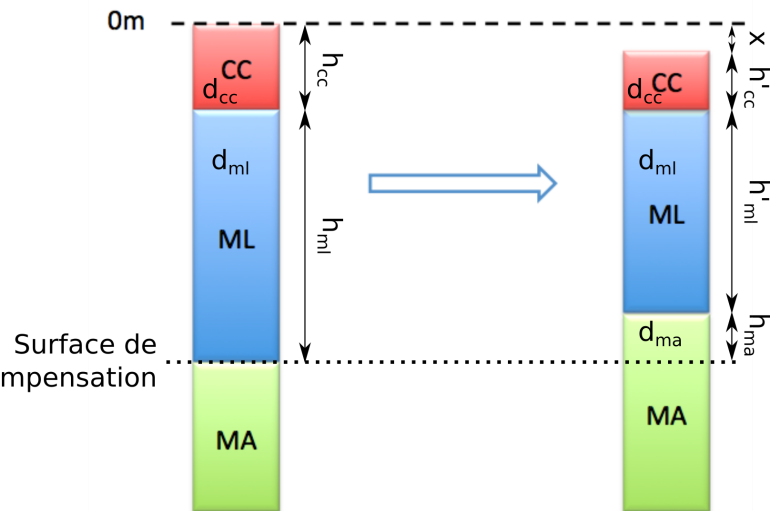
a. La vitesse moyenne des ondes P est de $8 \text{ km}\cdot\text{s}^{-1}$ à 150 km de profondeur. **A l’aide du document 4 (en couleur) calculez la vitesse minimale des ondes P dans la région du grand Rift à cette profondeur.**

Le ralentissement des ondes P est de l’ordre de 1,5 % au maximum. La vitesse des ondes au centre du Rift est donc de : $0,985 \times 8 = 7,88 \text{ km}\cdot\text{s}^{-1}$

b. **Décrivez et analysez le profil tomographique aux trois profondeurs données dans le document 4.**

Aux trois profondeurs données (75 km, 150 km et 250 km), on observe une baisse de vitesse de l’ordre de 1 à 1,5 %, ce qui peut être interprété comme une augmentation de température des roches du manteau. On peut donc proposer une remontée d’asthénosphère, déjà évoquée dans la question précédente, qui peut être due à une extension, ou à un point chaud. La forme allongée SO-NE évoque plutôt une extension, qui n’a pas de raison d’être ponctuelle, comparée à un point chaud.

Question 5. Dans un contexte de divergence, la lithosphère continentale s'amincit par étirement. Pour une enveloppe donnée, on définit un coefficient d'étirement β tel que : $\beta = \frac{h_i}{h_f}$ où h_i et h_f sont les hauteurs initiale et finale de la couche respectivement. On considère une lithosphère formée de 29 km de croûte et de 90 km de manteau lithosphérique. Calculez la subsidence, c'est-à-dire l'enfoncement de la surface du sol, d'une lithosphère continentale étirée d'un coefficient β de 1,3. Pour cela, commencez par compléter la figure du document 5, en remplaçant les différentes épaisseurs et la surface de compensation, puis détaillez votre raisonnement pour arriver au résultat.



Le document a été complété, avec les différentes hauteurs et les différentes densités définies. On a défini la surface de compensation. A l'équilibre, les deux colonnes ont donc la même masse. On peut donc dire que :

$$h_{cc} d_{cc} + h_{ml} d_{ml} = h'_{cc} d_{cc} + h'_{ml} d_{ml} + h_{ma} d_{ma}$$

$$\Rightarrow (h_{cc} - h'_{cc}) d_{cc} + (h_{ml} - h'_{ml}) d_{ml} = h_{ma} d_{ma}$$

or $\beta = \frac{h_{cc}}{h'_{cc}} = \frac{h_{ml}}{h'_{ml}}$

donc $(h_{cc} - \frac{h_{cc}}{\beta}) d_{cc} + (h_{ml} - \frac{h_{ml}}{\beta}) d_{ml} = h_{ma} d_{ma}$

$$\Rightarrow h_{ma} = (1 - \frac{1}{\beta}) \frac{h_{cc} d_{cc} + h_{ml} d_{ml}}{d_{ma}}$$

or $x = h_{cc} + h_{ml} - h'_{cc} - h'_{ml} - h_{ma}$

donc $x = (h_{cc} + h_{ml}) (1 - \frac{1}{\beta}) - (\frac{h_{cc} d_{cc} - h_{ml} d_{ml}}{d_{ma}}) (1 - \frac{1}{\beta})$

$$\Rightarrow x = (1 - \frac{1}{\beta}) (h_{cc} + h_{ml} - \frac{h_{cc} d_{cc} - h_{ml} d_{ml}}{d_{ma}})$$

$$\Rightarrow x = (1 - \frac{1}{\beta}) (h_{cc} (1 - \frac{d_{cc}}{d_{ma}}) + h_{ml} (1 - \frac{d_{ml}}{d_{ma}}))$$

Application numérique : $x = 0,7 \text{ km} = 700 \text{ m}$

La subsidence est d'environ de 700 m pour un amincissement de $\beta = 1,3$.

Question 6.

a. A l'aide du document 6A, calculez le gradient hydrothermique, c'est-à-dire le gradient de température, dans le lac Kivu. NB : on ne prendra pas en compte les 50 premiers mètres.

On calcule $\frac{\Delta T}{\Delta P}$ avec T la température et P la profondeur, en assimilant cette évolution à une évolution linéaire. On

trouve un gradient $\frac{dT}{dP} = 8,1 \cdot 10^{-3} \text{ K} \cdot \text{m}^{-1} = 8,1 \text{ K} \cdot \text{km}^{-1}$

b. Comparez le résultat obtenu au gradient géothermique moyen de la croûte (30 K.km⁻¹) et du

manteau (0,3 K.km⁻¹). Que pensez-vous de la possibilité de convection dans le lac Kivu ?

Le gradient hydrothermique est nettement supérieur au gradient du manteau (27 fois plus important), mais légèrement moins important que celui de la croûte (moins de 4 fois moins).

Le gradient fort pour la croûte est expliqué par le fait qu'elle ne subit pas de convection ; le gradient faible du manteau est expliqué par sa forte convection. Le lac Kivu a un gradient très fort, bien que plus faible que le gradient de la croûte : le lac Kivu est probablement **un lac sans convection**.

c. Analysez l'évolution de la conductivité en fonction de la profondeur (document 6B). Exploitez ce document pour apporter un éclairage à votre réponse à la question 6b.

La conductivité augmente avec la profondeur, de façon irrégulière, et est multipliée par 5 entre les eaux de surface et les eaux profondes. Or, la conductivité est corrélée linéairement avec la salinité, donc avec la densité. Donc les eaux du fond du lac ont, à température donnée, une densité croissante avec la profondeur, qui s'oppose à la convection. On a donc deux paramètres influençant la convection dans deux sens différents :

- la différence de température (chaud en bas) favorise la convection, car les eaux chaudes sont moins denses.
- la différence de salinité (salé en bas) défavorise la convection, car les eaux salées sont plus denses.

Le profil de température, de type conductif, permet de postuler que c'est le paramètre salinité qui est le plus important ici.

II. Biologie (durée conseillée : 1h45)

I. La réparation de l'ADN

Le rayonnement ultraviolet (UV) interagit fortement, directement ou non, avec la molécule d'ADN, et notamment les UVA, qui sont les rayons UV de faible énergie. On propose de voir ici quelques aspects de l'interaction entre l'ADN et les UVA.

Question 1. En analysant précisément les trois documents 1A, 1B et 1C, mettez en évidence trois effets de l'UVA sur l'ADN.

Document 1A

Analyse du protocole : le paramètre variant est l'irradiation aux UVA. On détecte avec ou sans irradiation aux UVA la présence de l'anticorps anti-CPD sur l'ADN, de façon à savoir si les UVA provoquent l'apparition de dimères de thymine. Ces anticorps sont observés grâce à des petits points lumineux, grâce au microscope à force atomique. L'ADN est visible sous forme de filaments, à cette échelle (1 mm = 5 nm = 50 Å).

Observation : on a un nombre de molécules d'ADN comparable (5 molécules pour le témoin, 6 molécules pour le test).

- Chez le test (avec UVA), les anticorps sont fixés à l'ADN systématiquement (15 anticorps en tout).
- Chez le témoin (sans UVA), seul un anticorps est fixé à l'ADN, et les 13 autres (14 en tout) sont sur le support, non liés à l'ADN.

Interprétation : Donc les UVA provoquent l'apparition de dimères de thymine.

Document 1B

Analyse du protocole : on fait la même expérience que précédemment, mais le fait d'ajouter en plus l'enzyme T4-EN-V permet d'ajouter la détection des sites apuriniques. La quantification des anticorps anti-CPD permet de déterminer le nombre de dimères de thymine ; comme T4-EN-V détecte les dimères de thymine ET les sites apuriniques, la différence entre le nombre de molécules positives T4-EN-V (N_{T4}) et le nombre de molécules positives anti-CPD (N_{CPD}) permet de donner le nombre de molécules portant des sites apuriniques. Comme dans l'expérience précédente, on compare une situation avec ou sans UVA, de façon à connaître l'effet des UVA sur ces deux types de modifications.

Observation :

Avec UVA : $N_{T4,UVA+} = 146$ et $N_{CPD,UVA+} = 70$, donc $N_{apur,UVA+} = N_{T4,UVA+} - N_{CPD,UVA+} = 76$. On a donc 70 molécules affectées par des dimères de thymine, et 76 molécules affectées par des sites apuriniques.

Sans UVA : $N_{T4,UVA-} = 52$ et $N_{CPD,UVA-} = 6$, donc $N_{apur,UVA-} = N_{T4,UVA-} - N_{CPD,UVA-} = 46$. On a donc 6 molécules affectées par des dimères de thymine, et 46 molécules affectées par des sites apuriniques.

Interprétation : on avait déjà vu plus haut (document 1A) que les dimères de thymine étaient produits par les UV, et on avait même pu quantifier cette formation à petite échelle. On peut ici la **quantifier** plus précisément le nombre de dimères de thymine produits par cette exposition aux UVA : il est de $N_{CPD,UVA+} - N_{CPD,UVA-} = 70 - 6 = 64$ sites pour 10^6 pb.

De même, on peut quantifier l'effet des UVA sur la formation des sites apuriniques : il est de $N_{apur,UVA+} - N_{apur,UVA-} = 76 - 46 = 30$ sites pour 10^6 pb.

On peut dire que l'ADN est moins sensible aux UVA pour ce qui est de la formation des sites apuriniques que pour la

formation des dimères de thymine.

Critique : on ne précise pas dans la légende du document la puissance d'UVA ni la durée d'exposition (autrement dit, l'énergie totale reçue par l'ADN), qui ne permet donc pas de faire une extrapolation claire entre cette situation et ce qui pourrait se passer dans les cellules humaines lors d'une exposition au soleil.

Document 1C

Analyse du protocole : on a observé, toujours au microscope à force atomique, des plasmides, avec ou sans UVA (paramètre variant) de façon à voir si les UVA provoquent ou non une modification de la topologie de l'ADN.

Observation : sans UVA, les plasmides ont une forme particulière, notée S, qui ne ressemble pas du tout à la forme ronde qu'ont normalement ces plasmides ; ils paraissent au contraire emmêlés. Après exposition aux UVA, certains plasmides ont toujours cette forme S, mais d'autres ont une forme R, qui apparaît plus proche de la forme classique circulaire.

Interprétation : les UVA provoquent donc le passage de la forme S à la forme R. L'ADN étant une hélice, on peut proposer que la forme S corresponde à des plasmides superenroulés (qui serait donc la forme normale), et les plasmides R à des plasmides non superenroulés (forme anormale, car conséquence de l'exposition aux UV). L'élimination des superenroulements nécessite forcément des cassures double brin : on montre donc que les UVA provoquent des cassures double brin.

Remarque : Il est difficile de déterminer si les UVA provoquent aussi la religation de l'ADN ayant subi ces cassures, ou si cette religation est le fait de la réparation de l'ADN. Sachant que l'étude est réalisée sur des molécules d'ADN isolées, il est probable que les UVA provoquent la cassure religation.

Question 2. Décrivez et expliquez la réponse cellulaire des cellules aux UVA.

Document 1a

Analyse du protocole : on observe au cours du temps, et **après** exposition des cellules aux UVA, l'évolution de nombre de dimères de thymine. On ne s'attend pas à une augmentation, puisqu'il n'y a pas d'exposition aux UVA. En revanche, si on constate une diminution du nombre de dimères, cela traduira des mécanismes de réparation.

Observation : on observe une diminution du nombre de dimères de thymine, qui passe de $12 \cdot 10^{-6} \text{ pb}^{-1}$ à $2 \cdot 10^{-6} \text{ pb}^{-1}$, soit une division par 6. Cette évolution est relativement lente, puisqu'elle nécessite environ 48h. L'évolution est très faible pendant les 24h suivantes.

Interprétation : les cellules réparent les dimères de thymine, avec une efficacité limitée, puisqu'au bout de 24h, environ 15 % des dimères de thymine persistent, et ne sont pas réparés.

Document 1b

Analyse du protocole : on mesure la capacité de prolifération en fonction de l'intensité du rayonnement UVA appliqué à des cellules. On mesure cette capacité de prolifération par rapport au témoin non irradié. On peut raisonnablement penser que les UVA, vu les dommages qu'il infligent à l'ADN, risquent de provoquer une diminution de la prolifération des cellules, soit par inhibition contrôlée due à cette agression, soit par mort prématurée des cellules. Il est, cependant, envisageable de constater une augmentation, qui serait alors peut-être due à un phénomène qui s'apparenterait à une cancérisation.

Observation : on constate une diminution, qui semble (pas de coefficient de corrélation pour le confirmer) être linéaire, avec une prolifération de l'ordre de 25 % seulement pour des intensités de l'ordre de $500 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$.

Interprétation : l'exposition aux UVA inhibe donc d'autant plus la capacité des cellules à se diviser et/ou à réaliser leur cycle cellulaire que l'intensité du rayonnement est importante. On peut interpréter cet effet en proposant que les capacités de réparation de l'ADN par la cellule sont trop faibles pour réparer les altérations provoquées par les intensités fortes. On notera que dans le document 1a, l'intensité était seulement de $50 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$, correspondant à une prolifération de plus de 90 % (faible inhibition, expliquée par une forte capacité à réparer les dimères de thymine).

Question 3.

a. Que nous apporte le document 3 dans l'étude de l'influence des UVA sur les cellules ?

Document 3

Analyse du protocole : on cherche à savoir si les UVA provoquent une diminution de la prolifération en ayant une incidence particulière sur une phase du cycle cellulaire donnée. Pour cela, on quantifie le pourcentage de cellule en phase G1 ou G2 + S + M (G2, réplication et mitose), et on le compare entre la situation témoin et la situation avec UVA.

Observation : la moitié des cellules sont en phase G1, et l'autre moitié en phases G2 + S + M ; seulement 1 % des cellules sont en phase subG1, c'est-à-dire un état anormal. Avec UVA, le pourcentage de cellules subG1 est multiplié par 15. 55 % des cellules sont en phase G1, et 30 % en phases G2 + S + M, mais rapportés à la quantité de cellules normales, ces pourcentages se montent en réalité à 65 % et 35 % respectivement.

Interprétation : les UVA provoquent donc :

- une augmentation forte (x 15) du nombre de cellules aberrantes, qu'on interprète comme correspondant à des cellules mortes, ou en cours d'apoptose, ou ayant subi de graves mutations rendant leur cycle cellulaire aberrant. On a vu plus haut que les UV provoquaient des modifications importantes de l'ADN, qui peuvent expliquer cette observation.
- une augmentation de nombre de cellules normales en phase G1, et une diminution du pourcentage de cellules en phase G1 + S + M. On peut l'expliquer par un arrêt des phénomènes de réplication et mitose (impliqués dans la transmission de l'information génétique aux cellules filles), permettant de protéger les éventuelles cellules filles contre la transmission d'un ADN profondément muté. En ce sens, les cellules en phase G1 observées ici peuvent être comparées à des cellules en phase G0.

b. 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 du document 3 la durée de la phase G1 dans ces cellules.

49 % des cellules sont en phase G1 à un instant donné, donc la durée de la phase G1 correspond à 49 % du temps total du cycle (16h). Le calcul donne $0,49 \times 8h = 3,92h$, soit 3h et 55 min.

II. La mitose

Question 4. Par l'analyse rigoureuse des documents 4A et 4B, proposez une hypothèse concernant le rôle de la protéine SCC1.

Document 4A

Analyse du protocole : on étudie le bourgeonnement (c'est-à-dire la séparation des cellules) et la séparation des chromatides lors de la mitose chez des levures mutantes SCC1 ou sauvages (le paramètre variant est donc le génotype, mutant ou sauvage). On cherche de cette façon à voir si la protéine Scc1 a une influence sur la séparation des chromatides ou sur le bourgeonnement des cellules, notamment sur la chronologie de ces événements, en mesurant l'évolution du pourcentage de cellules ayant bourgeonné ou ayant les chromatides séparées en fonction du temps. On traite les cellules avec le nocodazole, qui empêche les événements cytotogiques en lien avec les microtubules, à commencer par l'anaphase. On cherche donc à étudier l'effet de SCC1 sur la mitose indépendamment de l'action des microtubules, et notamment la séparation des chromatides microtubules-dépendante.

Observation : pour le témoin, le bourgeonnement commence à 90 min environ, et la plupart des cellules ont bourgeonné à 135 min. Pour le mutant SCC1, l'évolution est comparable, si ce n'est que 10 % des cellules bourgeonnent dès le début de l'expérience, et l'augmentation forte du bourgeonnement débute avec un décalage dans le temps (15 min plus tôt).

Interprétation : on en déduit que SCC1 a un rôle dans le bourgeonnement, et rend le bourgeonnement plus précoce. Le bourgeonnement étant le mode de cytodivision des levures, il est possible que SCC1 contrôle la cytodivision, par exemple en contrôlant la polymérisation des filaments d'actine (ou autre hypothèse : les levures n'étant ni des plantes ni des champignons, leur cytodivision n'a pas de raison de se faire selon le mode vu chez ces deux groupes). On note aussi que le bourgeonnement est indépendant des microtubules, ce qui n'était pas évident *a priori*.

Observation : pour le témoin, la séparation des chromatides commence tout juste à la fin de l'expérience (0 % de chromatides séparées jusqu'à 180 min, moins de 10 % à 195 min). Pour le mutant SCC1, la séparation des chromatides débute à 60 min, et croît de façon à peu près linéaire en fonction du temps jusqu'à 195 min, pour atteindre un pourcentage de 45 % environ, ce qui est considérable si on le compare au témoin. On rappelle que les cellules sont traitées au nocodazole, qui empêche l'anaphase notamment.

Interprétation : la protéine SCC1 a donc un rôle majeur dans le contrôle de la séparation des chromatides : elle permet d'empêcher une séparation précoce des chromatides. On notera que la séparation des chromatides n'est pas microtubules-dépendante, puisque même avec traitement au nocodazole, les chromatides sont séparées (pour presque la moitié des cellules) chez le mutant.

Remarque : on notera également que la séparation des chromatides et le bourgeonnement sont complètement découplés, ce qui peut paraître étrange si on compare à ce que l'on sait de la chronologie anaphase-cytodivision chez les plantes et les animaux. On peut faire deux hypothèses explicatives :

- soit cet effet est dû à l'inhibition des microtubules, et n'est pas observé dans la nature. Il faudrait alors le vérifier en faisant la même expérience **sans** traiter les cellules au nocodazole.
- soit il y a effectivement une chronologie atypique entre anaphase et cytodivision (ce que suggère l'introduction), et l'anaphase se fait tardivement, alors que la cytodivision a déjà commencé.

Document 4B

Analyse du protocole : on mesure au cours du temps la quantité d'ADN par cellule, qui permet de savoir le pourcentage

de cellules en phase G1 (quantité q), en phase G2 (quantité 2q) ou en phase S (quantité intermédiaire entre q et 2q) chez un mutant et un sauvage, de façon à suivre les différentes phases du cycle cellulaire, et à savoir si SCC1 a une influence sur la durée de chacune des phases. On ne peut pas étudier la mitose, puisque les microtubules sont inhibés par le nocodazole. On peut prévoir que la quantité d'ADN ne peut pas diminuer (et redescendre de 2q à q) pour cette raison.

Observation : chez le témoin, la majeure partie des cellules ont une quantité d'ADN de l'ordre de 16 pg, soit q, entre le début de l'expérience et 90 min. Une part importante de cellules a alors une quantité d'ADN intermédiaire, jusqu'à 150 min environ, où la majeure partie des cellules a une quantité d'ADN de l'ordre de 32 pg, soit 2q. Chez le mutant SCC1, on observe des résultats très similaires, si ce n'est qu'une petite proportion de cellules ont une quantité d'ADN de 32 pg (2q) depuis le début de l'expérience jusqu'à 75 min, date à laquelle la proportion de cellules à 32 pg d'ADN augmente fortement.

Interprétation : SCC1 a donc relativement peu d'influence sur le cycle cellulaire, et ne modifie que très peu la durée des phases du cycle, en rendant à peine plus précoce la phase S (doublement de la quantité d'ADN à partir de 75 min pour le mutant, à partir de 90 min pour le témoin).

Conclusion sur le document 2 : SCC1 a plusieurs rôles, mais le rôle principal tel qu'on peut le déduire du document est le contrôle de la séparation des chromatides.

Question 5.

a. Identifiez les grandes phases du cycle cellulaire sur le document 5A.

Quantité d'ADN de 16 pg : phase G1.

Quantité d'ADN de 32 pg : phase G2.

Quantité d'ADN comprise entre 16 pg et 32 pg : phase S.

Passage de 32 pg à 16 pg : phase M.

b. Qu'apportent les documents 5B, 5C et 5D dans la compréhension du rôle de SCC1 ?

Document 5B

Analyse du protocole : on a détecté par immunofluorescence la tubuline (vert) et SCC1 (rouge), ainsi que les noyaux grâce à du DAPI (bleu). L'observation des levures au microscope à contraste de phase permet de connaître la morphologie des cellules, en distinguant celles qui sont en cours de mitose de celle qui ne le sont pas. On cherche ainsi à connaître la localisation cellulaire de SCC1. On s'attend à ce que SCC1 soit situé dans le noyau, ou à proximité des chromosomes lors de la division, ou à proximité du fuseau de division, vu son rôle déterminé dans le document 4.

Observation : on observe que chaque levure possède un noyau (DAPI). Certains noyaux sont liés par des microtubules (marquage vert), et dans ce cas, les deux levures liées sont très proches, éventuellement de taille différente. SCC1 n'est pas détectée dans toutes les cellules, mais seulement pour les cellules liées par les microtubules. Le SCC1 est inclus dans le noyau, quand il est présent.

Interprétation : les microtubules entre deux noyaux correspondent au **fuseau de division**. SCC1 est présent dans les noyaux, mais uniquement dans le cas où la cellule se divise. On a vu son rôle de contrôle de la séparation des chromatides précédemment : SCC1 exerce donc ce rôle probablement en interagissant physiquement avec les chromatides et uniquement pendant la mitose.

Document 5C

Analyse du protocole : on a vu la chronologie du cycle cellulaire dans l'analyse du document 2 : la phase S a lieu à partir de 60 min, et l'anaphase a lieu à partir de 135 min. On cherche à préciser la période du cycle cellulaire pendant laquelle SCC1 est présente, grâce à un western blot avec des anticorps anti-SCC1 ou anti-Swi6p (témoin de charge) correspondant à des populations de cellules au cours du temps. On s'attend à ce que SCC1 soit présent pendant la métaphase, et absent à partir de l'anaphase.

Observation : SCC1 est présent en quantité extrêmement faibles, voire nulles, de 0 à 45 min, puis présent en quantités importantes de 60 à 120 min, puis sa concentration diminue à nouveau à partir de 135 min pour devenir proche de 0 en fin d'expérience.

Interprétation : SCC1 est présent non seulement pendant la métaphase (juste avant l'anaphase), mais également depuis le début de la phase S. Cette protéine permet donc d'attacher les chromatides à partir du moment où elles commencent à être répliquées, soit bien avant la mitose.

Document 5D

Analyse du protocole : on observe les chromosomes au cours de la mitose chez des lymphocytes de poulet portant la même mutation du gène SCC1 que celle qui a été étudiée précédemment chez la levure. On cherche à montrer morphologiquement que SCC1 permet d'attacher les chromatides. On s'attend à ce que les chromatides ne soient pas liés en l'absence de SCC1.

Observation : on observe que les deux chromatides, chez le sauvage, sont liées entre elles, mais qu'elles sont clairement séparées chez le mutant.

Interprétation : SCC1 permet donc bien de lier les deux chromatides.

Question 6.

a. Par une analyse rigoureuse du document 6A, montrez que ESP-1 est une protéase permettant le clivage de SCC1.

b. Expliquez les observations du document 6B.

Document 6A

Analyse du protocole : on recherche par western blot la protéine SCC1 dans différents extraits de chromatine, avec ou sans protéine ESP-1, et avec protéine ESP-1 mutante ou non, et inhibée ou non. On cherche de cette façon à voir si ESP-1 interagit avec SCC1, et en particulier, à montrer que ESP-1 est une protéase qui clive SCC1. Si ESP-1 est effectivement une protéase, alors le traitement de la chromatine par ESP-1 provoquera une destruction totale (auquel cas, on n'aura aucune bande) ou partielle (auquel cas, la SCC1 sera plus petite et migrera plus loin) de SCC1.

Observation et interprétation :

- Sans ESP-1, on observe une migration à un certain niveau, correspondant à une centaine de kDa, et qui est le témoin.
- Avec ESP-1 mutée, la migration est la même que pour le témoin : ESP-1 mutée n'interagit donc pas avec SCC1.
- Avec ESP-1 sauvage et sans inhibiteur, la migration de SCC1 montre une taille d'environ 60 kDa, donc SCC1 a été clivée. Le facteur variant par rapport au témoin étant la présence de ESP-1, on peut donc affirmer que c'est ESP-1 qui a clivé SCC1.
- Avec des doses croissantes de l'inhibiteur de SCC1, on constate une disparition de la bande à 60 kDa et une réapparition de la bande à 100 kDa, donc c'est bien ESP-1 et pas une autre molécule introduite par erreur dans le tube qui a provoqué le clivage de SCC1.

Document 6B

Analyse du protocole : on observe les chromosomes et les noyaux (le cas échéant) colorés au Giemsa, qui colore la chromatine, chez un sauvage ou un mutant ESP-1. On a vu que SCC1 liait les deux chromatides jusqu'à l'anaphase. On a vu dans le document 6A que ESP-1 clivait SCC1. Donc, chez le mutant ESP-1, on s'attend à ce que SCC1 ne soit pas clivé, et donc que les chromatides restent liées entre elles.

Observation : en fin de métaphase, les chromatides apparaissent séparées chez le témoin, mais particulièrement proches ou liées chez le mutant ESP-1. En fin de télophase, les deux noyaux sont formés à nouveau chez le témoin, et parfaitement individualisés, mais ils sont encore liés par des ponts de chromatine chez le mutant ESP-1.

Interprétation : ESP-1, en clivant SCC1 permet aux chromatides de se séparer. Lorsque ESP-1 est mutée, elle perd son rôle de protéase, ce qui a pour conséquence une mauvaise séparation des chromatides, qui restent encore partiellement liés même après télophase.

Question 7. Par un schéma simple, représentez ce que vous avez appris du rôle de SCC1 et de ESP-1 dans ce devoir.

SCC1 est l'acronyme de *Sister Chromatid Cohesin 1* (cohésine des chromatides sœurs). ESP-1 code une protéine plus communément connue sous le nom de *séparase*, qui permet comme son nom l'indique la séparation des deux chromatides, par clivage de la SCC1.

