

L'usage de calculatrices électroniques de poche à alimentation autonome, sans imprimantes et sans documents 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.

Le sujet proposé est composé de trois parties, un sujet de synthèse et deux sujets sur documents. Ces trois parties sont indépendantes, vous pouvez les aborder dans l'ordre de votre choix.

Il sera tenu compte de la clarté, de la précision et de la concision dans les réponses et les schémas. L'évaluation portera sur la rigueur avec laquelle vous conduirez votre raisonnement et justifierez vos conclusions sur l'ensemble du sujet.

Il vous est fortement recommandé de bien gérer votre temps de composition afin de pouvoir aborder les trois parties de ce sujet. À titre tout à fait indicatif, des temps de composition sont indiqués pour chacune des parties.

Sujet de synthèse (durée conseillée : 2 h 30)

La diversité et les rôles des hormones végétales

En vous appuyant sur des exemples précis vous mettrez en évidence la notion d'hormone chez les végétaux. Vous soulignerez les rôles importants que jouent ces molécules pour permettre la croissance et le développement de la plantule à la plante adulte.

Le sujet devant être traité en 2 h 30, il est nécessaire d'appuyer chaque point que vous développerez à l'aide d'un petit nombre d'exemples judicieusement choisis sans chercher à être exhaustif. La logique du plan, l'équilibre entre les parties et l'organisation des idées seront particulièrement prises en compte.

Partie 2 – Le monoxyde d’azote et l’hypoxie (durée conseillée : 1 h 45)

Introduction

L'apport de dioxygène aux cellules des Mammifères est contrôlé en fonction des besoins à la fois par l'appareil respiratoire et par l'appareil circulatoire.

Question 1 : Présentez rapidement (en quelques phrases) les différents paramètres permettant de réguler l'apport de dioxygène aux cellules.

Question A

On cherche à comprendre l'action du monoxyde d'azote (NO) sur les cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux sanguins.

La contraction des cellules musculaires lisses nécessite la phosphorylation de la sérine en position 196 de la MRLC (Myosin Regulatory Light Chain). Cette phosphorylation est contrôlée par les activités antagonistes de la MLCP (Myosin Light Chain Phosphatase) et de la MLCK (Myosin Light Chain Kinase). MLCK est activée lorsque la calmoduline, une protéine de signalisation intracellulaire, se fixe à des ions Ca^{2+} .

Des anneaux de couches musculaires de carotide de porc sont cultivés *in vitro* et mis en présence de GSNO (S-nitrosogluthation, une molécule qui spontanément se décompose dans le milieu de culture en générant de manière continue du NO). La force active de contraction, le pourcentage de MRLC sous la forme phosphorylée sur la sérine 196 et l'activité phosphatase MLCP sont mesurés (Figure 1).

Question 2 : Analysez et interprétez les résultats de cette expérience.

La concentration de GMPc (GMP cyclique), une molécule de transduction intracellulaire, augmente transitoirement dans les cellules musculaires lisses dès le début de l'incubation avec GSNO. De plus, en absence de source de NO, des analogues du GMPc sont capables d'induire la déphosphorylation de la sérine 196 de la MRLC, d'augmenter l'activité MLCP et de faire diminuer la concentration de Ca^{2+} cytosolique.

Question 3 : Comment le NO pourrait-il contrôler l'état de contraction des cellules musculaires lisses des parois des vaisseaux sanguins ?

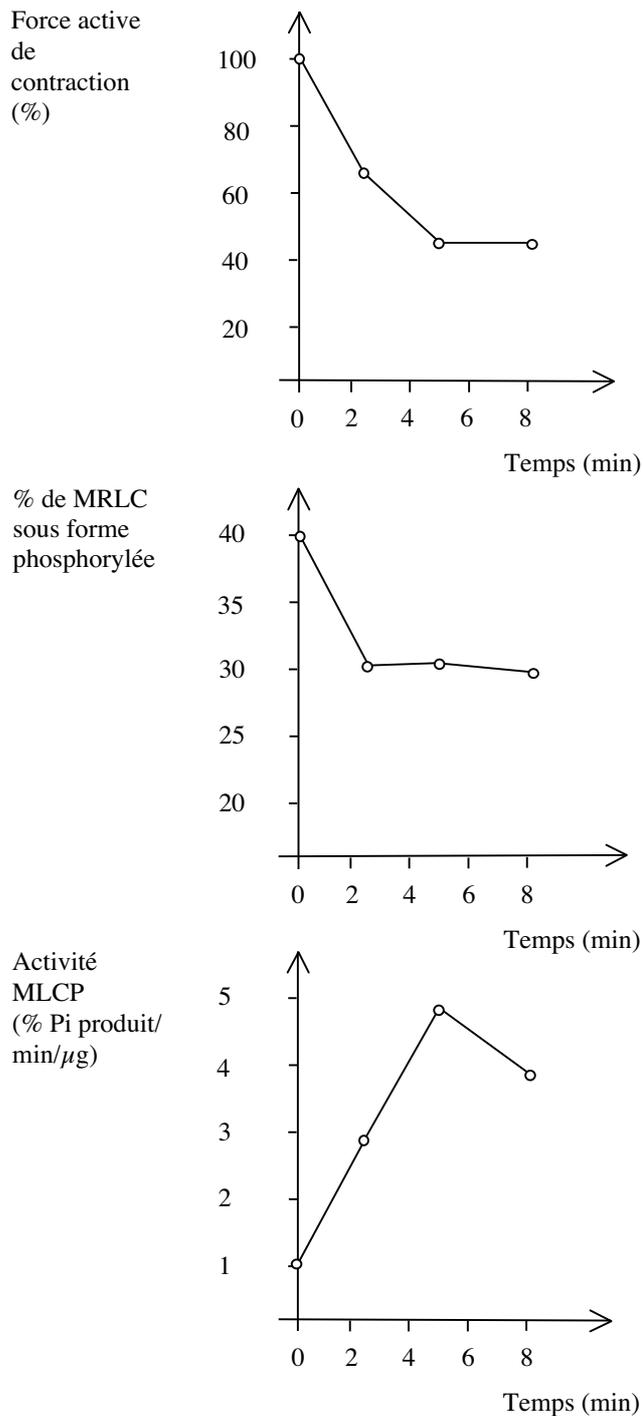


Figure 1: Des anneaux de couches musculaires de carotide de porc sont mis à incuber en présence de 109 mM de K^+ , ce qui a pour effet de les faire contracter. A $t=0$, on ajoute du GSNO dans le milieu. On mesure aux différents temps de l'expérience la force active de contraction (exprimée en pourcentage par rapport à la force de contraction maximale), le pourcentage de MRLC sous la forme phosphorylée sur la sérine 196 et l'activité MLCP à partir d'extraits cellulaires.

Question B

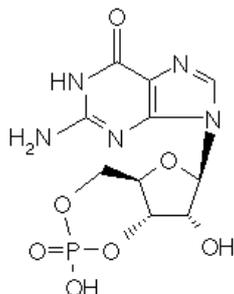
Les effets cellulaires du NO sont analysés sur des lignées de cellules rénales HEK exprimant constitutivement une forme soluble de la guanylyl cyclase qui est exprimée normalement dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins. Deux lignées sont disponibles : HEK-GCa où la guanylyl cyclase est fortement exprimée et HEK-GCb où la guanylyl cyclase est plus faiblement exprimée. Une lignée-témoin de cellules HEK qui n'expriment pas la forme soluble de la guanylyl cyclase est également disponible.

Les lignées de cellules sont cultivées dans un milieu standard puis mis en présence de GSNO. Après un temps donné, la quantité de GMPc (dont la formule est donnée en Figure 2A) dans les cellules est mesurée (Figure 2B). La quantité de GTP dans les différentes lignées cellulaires au bout de 5 minutes de présence de GSNO est mesurée (Figure 2C).

Question 4 : Quel est l'effet du NO sur la production de GMPc ?

Question 5 : Que peut-on déduire des résultats de la figure 2C sur l'origine du GMPc ?

A



B

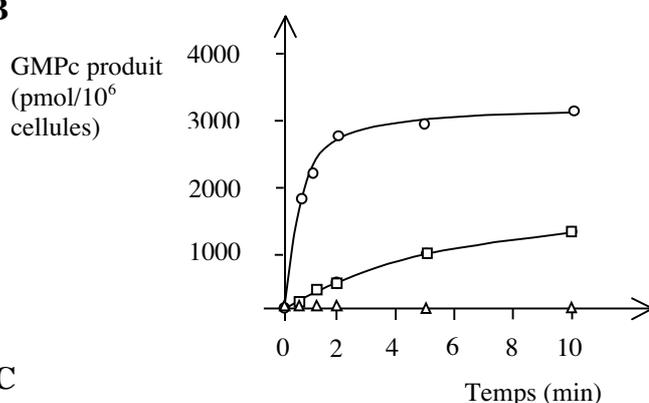
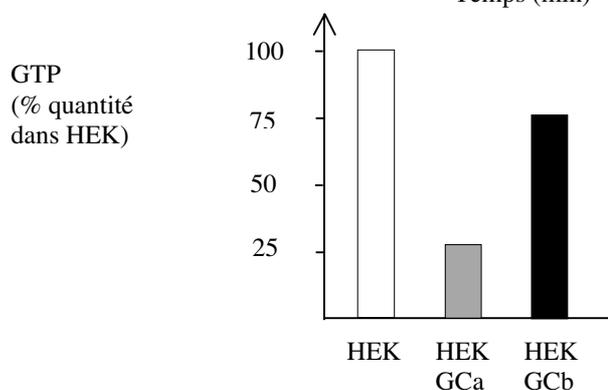


Figure 2 : **A.** On donne la structure du GMPc. **B.** Les lignées de cellules HEK-GCa (cercles), HEK-GCb (carrés) ou HEK (triangles) sont mis en présence de 100 μ M GSNO à t=0. On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radioimmunologique. **C.** La quantité de GTP dans les lignées cellulaires est mesurée au bout de 5 minutes de présence de 100 μ M GSNO après séparation chromatographique des nucléotides. Cette quantité est exprimée en pourcentage de la quantité présente dans les cellules HEK.

C



On dispose d'une autre lignée de cellules HEK exprimant à la fois la forme soluble de la guanylyl cyclase étudiée précédemment et PDE5, une phosphodiesterase (cellules HEK-GC/PDE5). PDE5 n'est pas exprimée dans les lignées HEK, HEK-GCa et HEK-GCb. Les cellules HEK-GC/PDE5 sont mises en présence de GSNO, de même qu'une lignée de cellules musculaires lisses extraites de l'aorte. Les cellules HEK-GC/PDE5 sont également mises en présence de GSNO et de sildénafile, un inhibiteur spécifique de PDE5 et la quantité de GMPc est mesurée (Figure 3).

Question 6 : Au vu de la figure 3, quelle est la réaction catalysée par PDE5 ?

Question 7 : Que nous apprend la courbe concernant la lignée de cellules musculaires lisses aortiques ?

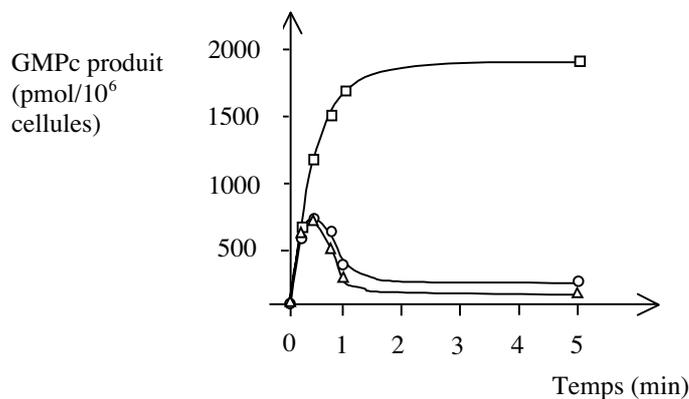


Figure 3 : La lignée de cellules HEK-GC/PDE5 est mise en présence de 100 μ M GSNO à t=0 en absence (cercles) ou en présence (carrés) de 100 μ M de sildénafile. Une lignée de cellules musculaires lisses aortiques est soumise au même traitement sans sildénafile (triangles). On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radioimmunologique

On étudie une nouvelle lignée de cellules HEK exprimant à la fois la forme soluble de la guanylyl cyclase et la forme mutée de PDE5 où la sérine en position 102 est remplacée par une alanine (lignée HEK-GC/PDE5(S102A)). La sérine 102 est un site potentiel de phosphorylation. Les cellules sont mises en présence de GSNO et la quantité de GMPc est mesurée comme précédemment (Figure 4A), ainsi que l'activité PDE5 dans les extraits protéiques des cellules incubées en présence de GSNO (Figure 4B).

Question 8 : Analysez les résultats de la figure 4. Quelles hypothèses peut-on formuler sur le rôle de la sérine 102 dans l'activité de PDE5 et sur l'influence du NO sur cette activité ?

Question 9 : Présenter sous la forme d'un schéma un modèle de l'action de NO dans la cellule musculaire lisse des vaisseaux sanguins.

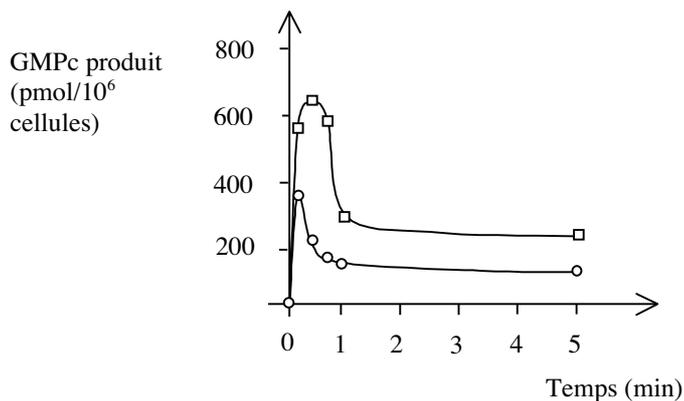
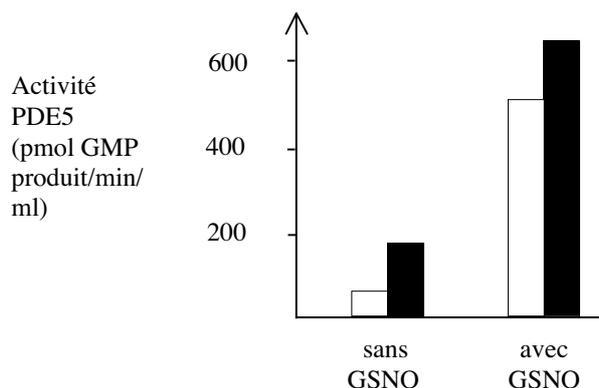
A**B**

Figure 4: **A.** Des lignées de cellules HEK-GC/PDE5 (carrés) ou HEK-GC/PDE5(S102A) (cercles) sont mises en présence de 100 μ M GSNO à $t=0$. On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radio-immunologique. **B.** L'activité PDE5 est mesurée dans des extraits protéiques issus de cellules HEK-GC/PDE5 (barres blanches) ou HEK-GC/PDE5(S102A) (barres noires) incubées ou pas avec 100 μ M GSNO pendant 60 secondes.

Question C

Le NO est généré par oxydation de la L-arginine en L-citrulline par les enzymes NOS (NO synthases). Plusieurs isoformes de NOS sont codées par des gènes différents. eNOS est exprimée constitutivement et exclusivement dans les cellules endothéliales.

Des cellules endothéliales humaines extraites de cordons ombilicaux (HUVEC) sont cultivées *in vitro* dans des conditions standards (37°C, 95 % air, 5 % CO₂) puis placées dans une chambre d'hypoxie (37°C, 93 % N₂, 2 % O₂, 5 % CO₂). Au bout de 24 heures, les cellules sont lysées, leurs ARN extraits puis analysés. Dans ces conditions, les ARNm de eNOS sont deux fois plus nombreux dans les cellules en hypoxie que dans les cellules cultivées en parallèle dans des conditions standards (en normoxie).

Les cellules HUVEC sont transfectées avec une construction comportant un gène rapporteur (codant la luciférase, une enzyme dont la quantité peut être facilement mesurée) sous le contrôle des 6047, 5523 ou 5039 paires de bases situés en amont du site de démarrage de la transcription du gène *eNOS* (respectivement Luc-6047, Luc-5523 et Luc-5039). Les cellules sont placées dans des conditions d'hypoxie ou de normoxie pendant 24 heures et l'activité luciférase est mesurée (Figure 5).

Question 10 : Qu'est-ce qu'un gène rapporteur ? Donnez un autre exemple de gène rapporteur que la luciférase.

Question 11 : Analysez et interprétez ces résultats.

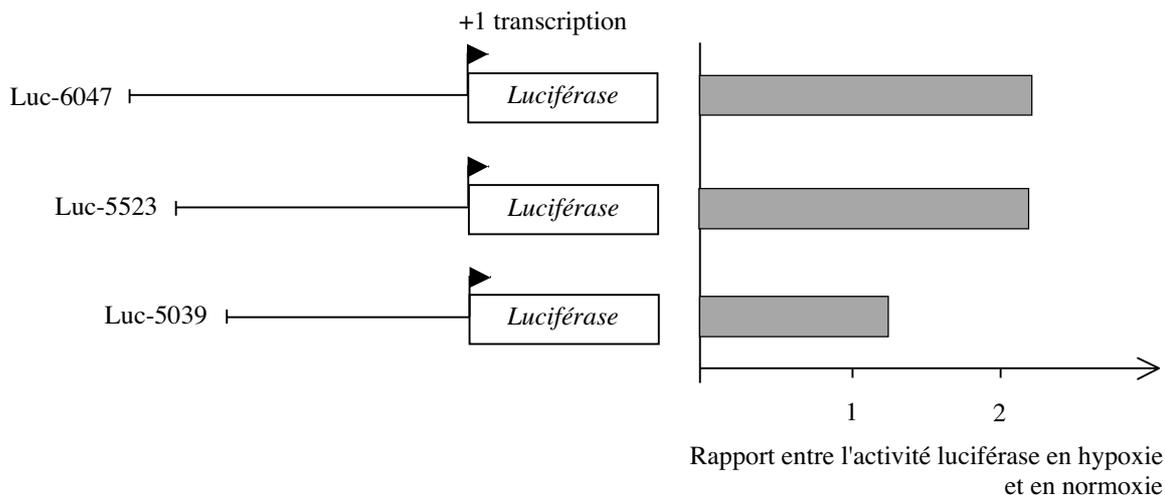


Figure 5 : Des cellules HUVEC sont transfectées avec une construction comportant le gène codant la luciférase sous le contrôle des 6047, 5523 ou 5039 paires de bases situés en amont du site de démarrage de la transcription du gène *eNOS* (respectivement Luc-6047, Luc-5523 et Luc-5039). Elles sont placées dans des conditions d'hypoxie ou de normoxie pendant 24 heures et l'activité luciférase est mesurée.

L'hypoxie des cellules HUVEC induit la présence d'un facteur de transcription HIF-1 (Hypoxia Inductible Factor-1) qui se fixe sur des séquences de type 5'—RCGTG-3' (où R désigne un nucléotide avec une purine). Un fragment de 265 paires de bases (pb) issu de la région mise en évidence précédemment et contenant la séquence 5'—CGTGTACGTG-3' a été isolé puis marqué radioactivement à l'extrémité 3' de l'un des brins. Ce fragment est soumis à une lyse partielle par la DNase I (une endonucléase qui coupe l'ADN de manière non spécifique). Dans ces conditions la DNase I clive le fragment de 265 pb en deux fragments. Cette lyse se fait en présence d'extraits nucléaires de cellules cultivées en conditions normoxiques ou en conditions hypoxiques. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse en conditions dénaturantes, puis soumis à autoradiographie (Figure 6).

Question 12 : Faites un schéma expliquant le principe de cette expérience.

Question 13 : Analysez les résultats de la figure 6.

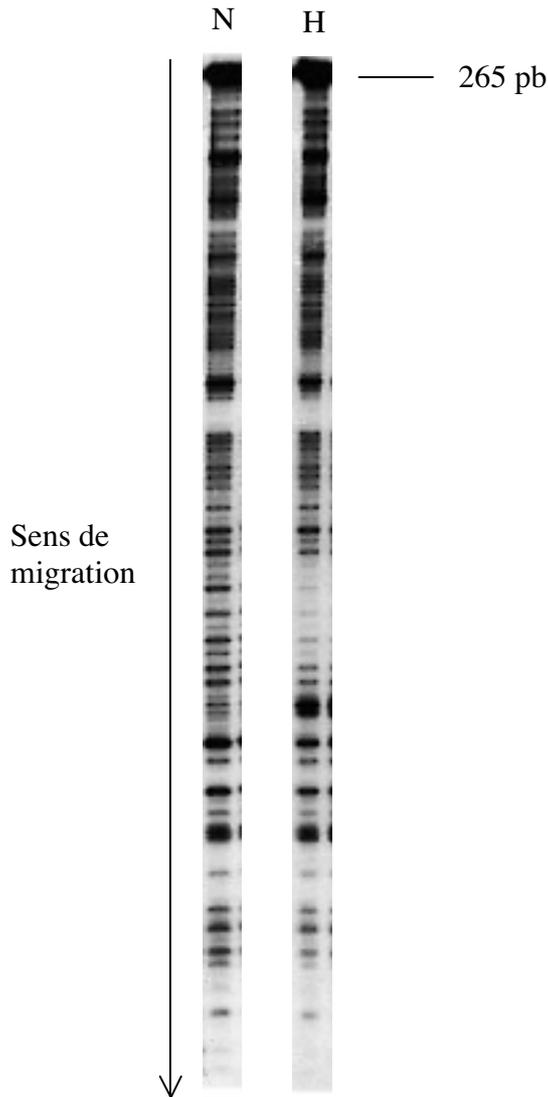


Figure 6 : Le fragment de 265 paires de bases des régions régulatrices de *eNOS* est isolé puis marqué radioactivement à l'extrémité 3' de l'un des brins. Ce fragment est soumis à une lyse partielle par la DNase I. Cette lyse se fait en présence d'extraits nucléaires de cellules cultivées en conditions normoxiques (N) ou en conditions hypoxiques (H). Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse en conditions dénaturantes, puis soumis à autoradiographie.

Des oligonucléotides contenant la séquence mise en évidence précédemment sont marqués par radioactivité puis incubés en présence d'extraits nucléaires de cellules cultivées en conditions normoxiques ou hypoxiques en présence ou en absence d'anticorps reconnaissant HIF-1. Les oligonucléotides migrent ensuite sur un gel d'électrophorèse en conditions non dénaturantes qui est finalement soumis à une autoradiographie (Figure 7).

Question 14 : Analysez les résultats.

Question 15 : Que peut-on déduire sur le contrôle de l'expression de *eNOS* ?

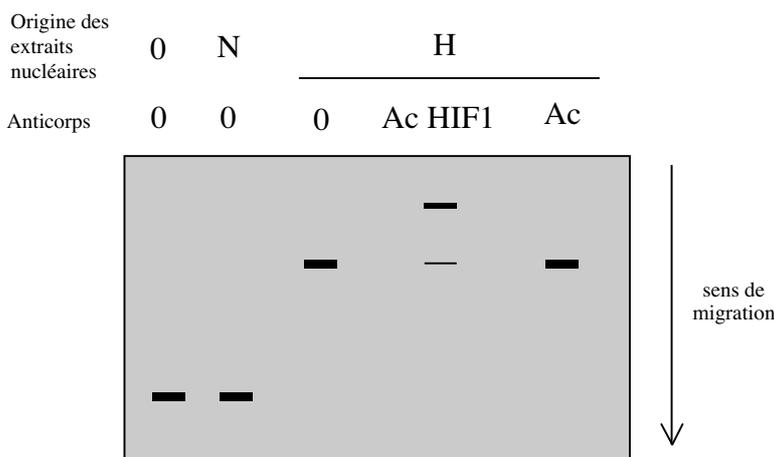


Figure 7 : Des oligonucléotides contenant la séquence d'intérêt sont marqués par radioactivité puis incubés en absence (0) ou en présence d'extraits nucléaires de cellules cultivées en conditions normoxiques (N) ou hypoxiques (H) et en absence (0) ou en présence d'anticorps reconnaissant HIF-1 (Ac HIF1) ou reconnaissant une autre protéine (Ac). Les oligonucléotides migrent ensuite sur un gel d'électrophorèse en conditions non dénaturantes qui est finalement soumis à une autoradiographie.

Question D

Le gène *HIF-1* est transcrit de la même manière (qualitativement et quantitativement) dans des tissus en normoxie ou en hypoxie. Cependant, la protéine HIF-1 est indétectable dans les cellules en normoxie alors qu'elle est abondante dans les cellules en hypoxie. En effet, la protéine possède un domaine appelé ODD (pour Oxygen-Dependent Degradation) qui contrôle sa dégradation rapide (temps de demi-vie inférieur à 5 minutes) dans des conditions normoxiques.

Des cellules de rein embryonnaires humaines sont transfectées avec un vecteur permettant l'expression constitutive de HIF-1 sauvage ou d'une protéine HIF-1 mutante dont le domaine ODD est tronqué (401Δ603), ou du facteur de transcription de levure Gal4 couplé au domaine ODD (Gal4-ODD) (Figure 8A). Les cellules sont incubées en conditions normoxiques ou hypoxiques et en absence ou présence de GSNO pendant 4 heures. Les cellules sont lysées et les extraits cellulaires obtenus sont incubés avec des oligonucléotides marqués radioactivement contenant la séquence 5'-CGTGTACGTG-3' (voir question C) ou la séquence reconnue par Gal4. L'ensemble est soumis à une électrophorèse sur gel en conditions non dénaturantes et révélé par autoradiographie (Figure 8B).

Question 16 : Analysez et interprétez ces expériences.

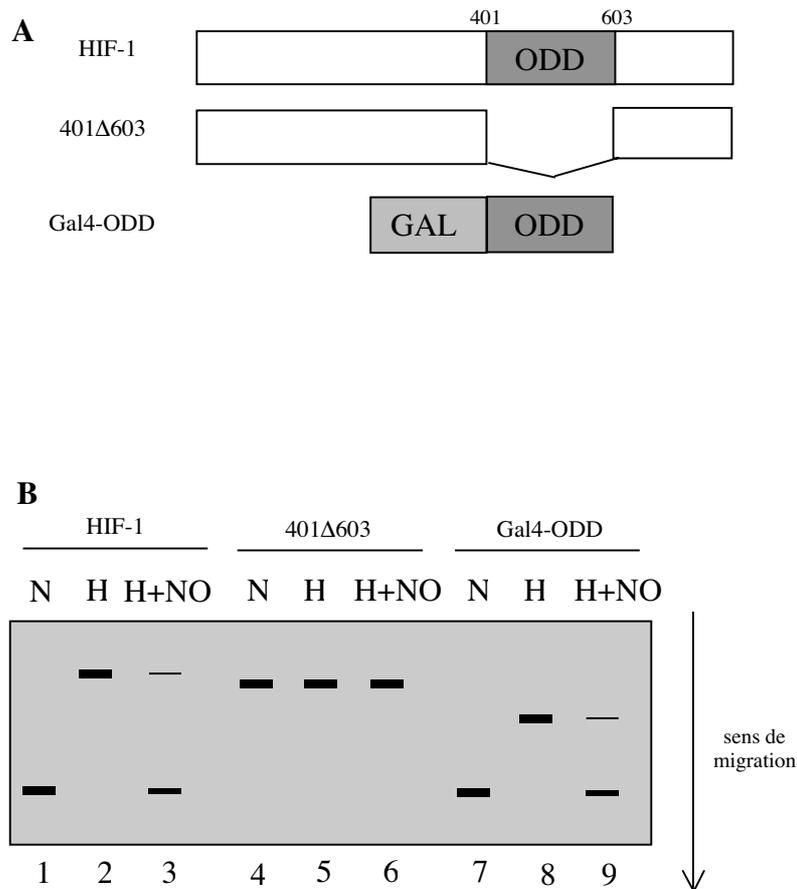


Figure 8 : **A.** On dispose de cellules de rein embryonnaires humaines exprimant HIF-1 sauvage ou mutée 401Δ603 dont le domaine ODD a été délété, ou exprimant le facteur de transcription de levure Gal4 couplé au domaine ODD (Gal4-ODD). **B.** Les cellules sont incubées en conditions normo-oxygènes (N) ou hypoxiques (H) et en absence ou présence de GSNO (+NO) pendant 4 heures. Les cellules sont lysées et les extraits cellulaires obtenus sont incubés avec des oligonucléotides marqués radioactivement contenant la séquence 5'-CGTGACGTG-3' (puits 1 à 6) ou la séquence reconnue par Gal4 (puits 7 à 9). L'ensemble est mis à électrophorèse en conditions non dénaturantes et révélé par autoradiographie .

BILAN :

Question 17. En rassemblant les résultats de toutes les expériences étudiées faites un schéma commenté présentant un modèle de la cascade d'événements induite par l'hypoxie dans la paroi d'un vaisseau sanguin.

Partie 3 – Le monoxyde d’azote dans la réponse au stress hydrique (durée conseillée : 1 h 45)

Le monoxyde d’azote (NO) est une molécule très active chimiquement, impliquée dans un grand nombre de voies biologiques aussi bien chez les animaux que chez les végétaux. Chez les plantes, les stress environnementaux, et principalement l’absence d’eau, sont les facteurs les plus importants limitant la productivité des cultures. Les plantes ont plusieurs mécanismes qui leur permettent de se protéger du déficit hydrique. Nous allons nous attacher au cours des expériences qui suivent, à comprendre l’implication du NO dans la réponse au stress hydrique.

Dans une première expérience, on mesure le contenu relatif en eau (CRE) de feuilles de blé soumises à différentes périodes de sécheresse (Figure 1). Ces feuilles, après avoir été détachées d’un plant de blé de 10 jours, sont traitées avant la période de sécheresse, soit avec de l’eau, soit avec du NO^2/NO^3 (produits de dégradation du NO), soit avec du nitroprussiate de sodium (SNP, une molécule qui produit du NO en solution durant 48 heures).

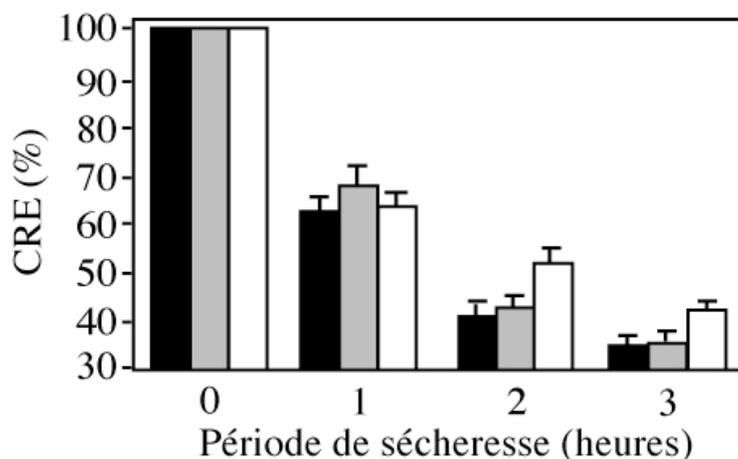


Figure 1 : Des feuilles de blé sont détachées et traitées avec de l’eau (barres noires) ou avec $1 \mu\text{M}$ de NO^2/NO^3 (barres grises) ou avec $150 \mu\text{M}$ de SNP (barres blanches) et soumises à différentes périodes de sécheresse (de 0 à 3 heures). Les valeurs du CRE sont exprimées en pourcentage en référence au temps 0. On ne peut pas dépasser 3 heures de sécheresse avec les feuilles détachées car au-delà, la mesure du CRE n’est plus possible.

Question 18 : Interprétez cette expérience. Quel biais expérimental pourrait être introduit par cette expérience ?

Des mesures semblables ont aussi été effectuées sur des plants de blé entiers de 10 jours (Figure 2) soumis à des périodes de sécheresse plus longues.

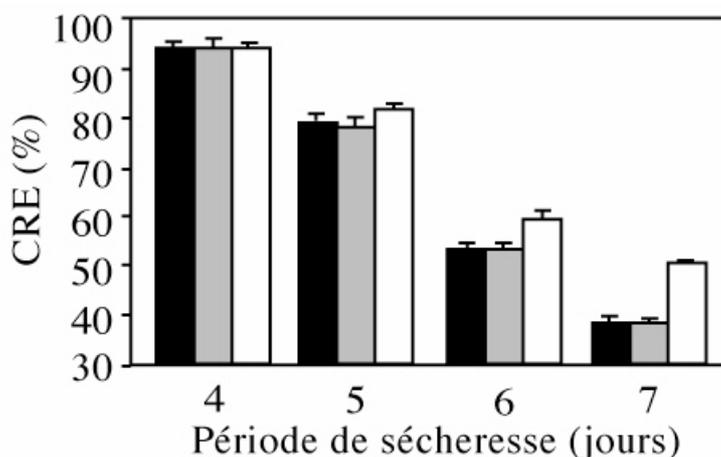


Figure 2 : Des plants de blé de 10 jours sont arrosés une fois avec de l’eau seule (barres noires) ou additionnée de $1 \mu\text{M}$ de NO^2/NO^3 (barres grises) ou $150 \mu\text{M}$ de SNP (barres blanches) et sont laissés sans arrosage pendant 10 jours. Les mesures du CRE sont effectuées après 4, 5, 6 et 7 jours de sécheresse. Les valeurs du CRE sont exprimées en pourcentage en référence au temps 0.

Question 19 : Commentez les résultats de cette expérience. Que vous apporte-t-elle comme information supplémentaire par rapport à la précédente ?

Des bandes d'épiderme découpées au scalpel d'une autre espèce de monocotylédone (*Tradescantia sp.*) et de deux autres espèces de dicotylédones (*Salpichroa organifolia* et *Vicia faba*) sont traitées avec de l'eau, du SNP ou du SNP et une molécule capable d'extraire spécifiquement le NO du milieu, le c-PTIO (2-4-carboxyphenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide). Les bandes d'épiderme sont observées au microscope optique après 1 heure d'incubation pour déterminer le nombre de stomates ouverts (Figure 3A). Une expérience similaire est réalisée en utilisant des concentrations croissantes de SNP et de c-PTIO (Figure 3B).

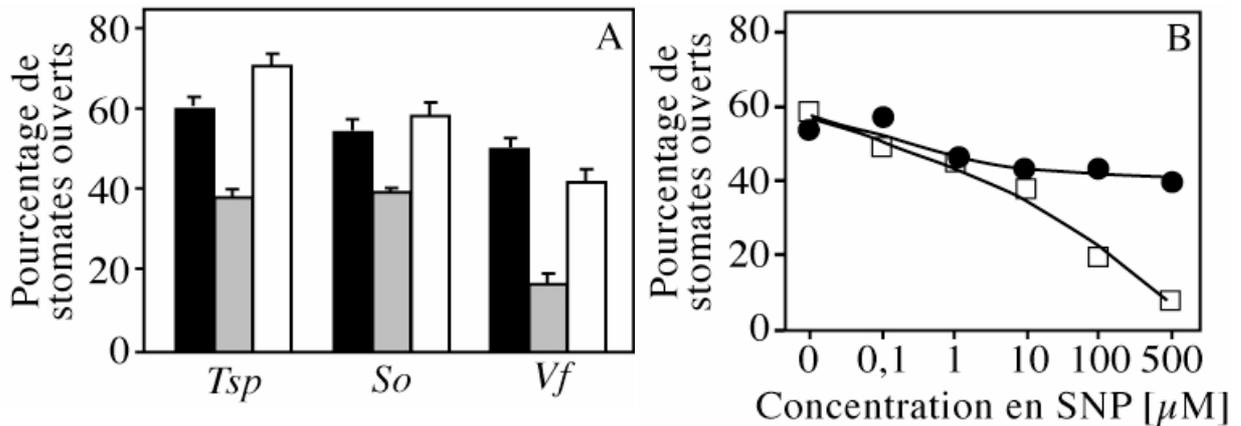


Figure 3 : **A.** Des bandes d'épiderme de feuilles de différentes espèces : *Tradescantia sp* (*Tsp*), *Salpichroa organifolia* (*So*) et *Vicia faba* (*Vf*) sont traitées avec (barres grises) ou sans (barres noires) 200 μ M de SNP et avec 200 μ M de SNP et 400 μ M de c-PTIO (barres blanches) pendant 1 heure. **B.** Des bandes d'épiderme de feuilles de *Vf* sont traitées de la même façon avec des concentrations croissantes de SNP (carrés vides) ou avec des concentrations croissantes de SNP combinées à des concentrations croissantes de c-PTIO (cercles pleins). Les concentrations utilisées pour le SNP sont de 0, 0,1, 1, 10, 100 ou 500 μ M et elles sont associées à des concentrations de c-PTIO de 0, 0,2, 2, 20, 200 ou 1000 μ M respectivement. Chaque valeur représente la moyenne d'au moins 90 stomates observés sur des feuilles différentes.

Question 20 : Décrivez et analysez les résultats obtenus. En quoi l'utilisation du c-PTIO est-elle intéressante ? Qu'apporte l'expérience de la figure 3B ?

Une réponse classique en cas de stress hydrique, est la production par la plante d'acide abscissique (ABA). Des bandes d'épiderme de pois (*Argenteum pea*) sont incubées à la lumière dans un milieu induisant l'ouverture des stomates (mesurée par le diamètre de l'ostiole), puis transférées pendant 2 heures dans différentes conditions (Figure 4). On utilise dans cette expérience du L-NAME (NG-nitro-L-Arg-methyl ester) un inhibiteur de la NO-synthase (NOS).

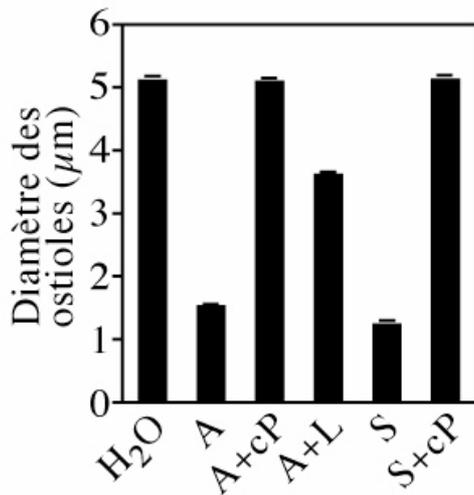


Figure 4 : Des bandes d'épiderme de pois sont traitées, après incubation dans un milieu ouvrant leurs stomates, pendant 2 heures avec de l'eau (H₂O), 10 µM d'ABA (A), 10 µM d'ABA et 200 µM de c-PTIO (A+cP), 10 µM d'ABA et 25 µM de L-NAME (A+L), 100 µM de SNP (S), et 100 µM de SNP et 200 µM de c-PTIO (S+cP). L'ouverture des ostioles est mesurée en µm et l'acquisition a été effectuée sur 180 stomates différents.

Question 21 : Interprétez les résultats de cette expérience.

Pour essayer de préciser les mécanismes moléculaires en jeu dans ce phénomène, les effets d'un analogue de second messenger, ou celui d'inhibiteurs de la production de seconds messagers ont été testés sur la mesure de l'ouverture des stomates de bandes d'épiderme de pois (Figure 5A et 5B). Les traitements sont effectués avec de l'ODQ (*1H-(1,2,4)-oxadiazole-[4,3]quinoxalin-1-one*) un inhibiteur de la production de GMPc (guanine mono-phosphate cyclique), avec du 8-Br-GMPc (8-bromo-GMPc) un analogue non hydrolysable du GMPc et avec de la nicotinamide un inhibiteur de la production d'ADPRc (adénosine 5'-diphosphate ribose cyclique), un autre second messenger.

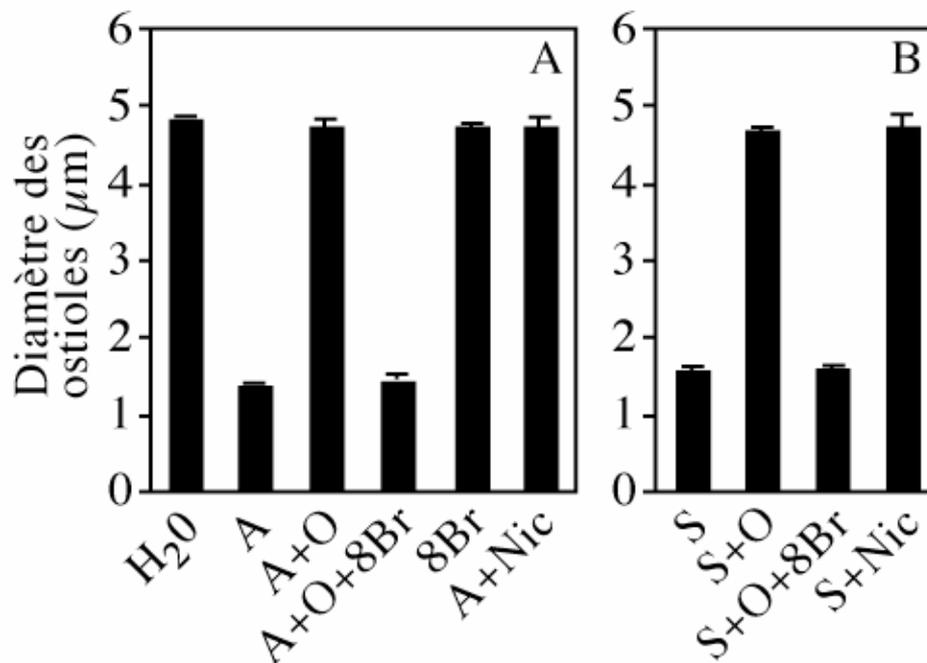


Figure 5 : **A.** Des bandes d'épiderme de pois sont incubées à la lumière pour induire l'ouverture des stomates puis traitées pendant 2 heures dans de l'eau (H₂O) ; avec de l'ABA (A) ; avec de l'ABA et de l'ODQ (A+O) ; avec de l'ABA, de l'ODQ et du 8-Br-GMPc (A+O+8Br) ; avec du 8-Br-GMPc seul (8Br) et avec de l'ABA et de la nicotinamide (A+Nic). **B.** D'autres bandes d'épiderme sont traitées de la même façon avec du SNP (S) ; du SNP et de l'ODQ (S+O) ; du SNP, de l'ODQ et du 8-Br-GMPc (S+O+8Br) et enfin du SNP et de la nicotinamide (S+Nic). L'ouverture des ostioles est mesurée en µm et l'acquisition a été effectuée sur 180 stomates différents. Les concentrations des différents produits utilisés sont les suivantes : ABA 10 µM, ODQ 2 µM, 8-Br-GMPc 50 µM, nicotinamide 5 mM et SNP 100 µM.

Question 22 : Décrivez et analysez les résultats présentés sur la figure 5A. Quelles sont les informations sur l'implication des seconds messagers lors de la fermeture des stomates que vous apporte cette expérience ?

Question 23 : Interprétez les résultats présentés sur la figure 5B. Qu'en déduisez-vous sur le rôle du NO dans ce phénomène ?

Des bandes d'épiderme de *Vicia faba* sont traitées avec un ensemble de produits différents selon plusieurs combinaisons (Figure 6). L'EGTA (*ethylene glycol bis(2-aminoethyl ether)-tetra acetic acid*) est un agent chélateur, capable de s'associer spécifiquement aux ions Ca^{2+} .

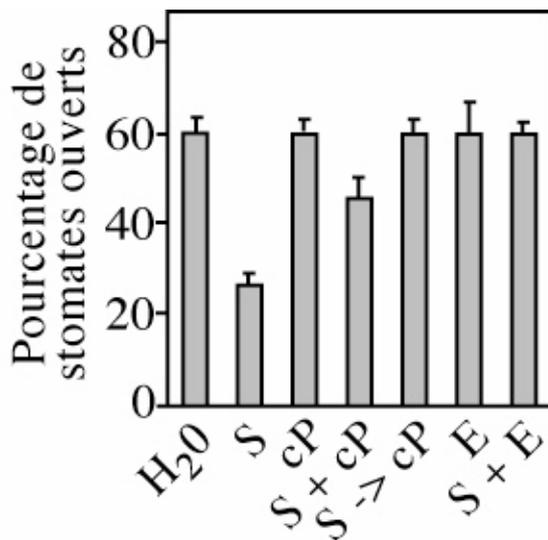


Figure 6 : Des bandes d'épiderme de feuilles de *Vicia faba* sont traitées avec de l'eau (H_2O), du SNP (S), du c-PTIO (cP), du SNP et du c-PTIO (S + cP), du SNP pendant 1 heure puis du c-PTIO (S → cP), de l'EGTA (E), du SNP et de l'EGTA (S + E). Les concentrations utilisées pour les différents produits sont les suivantes : SNP 100 μM , c-PTIO 200 μM et EGTA 2 mM. Chaque valeur représente la moyenne d'au moins 90 stomates observés sur des feuilles différentes.

Question 24 : Décrivez précisément les résultats de l'expérience de la figure 6. Quel est l'intérêt de tester plusieurs conditions d'association entre le c-PTIO et le SNP ? Quelles informations supplémentaires vous apporte l'utilisation de l'EGTA ?

On réalise des expériences d'électrophysiologie (sur cellule entière) dans lesquelles le voltage des cellules de garde est abaissé artificiellement (Figure 7). Lors de ces expériences, on utilise de la ryanodine (un inhibiteur des canaux calciques spécifique de la membrane vacuolaire) et de l'ODQ pour mesurer l'effet des seconds messagers sur la concentration en Ca^{2+} intracellulaire ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) (Tableau 1).

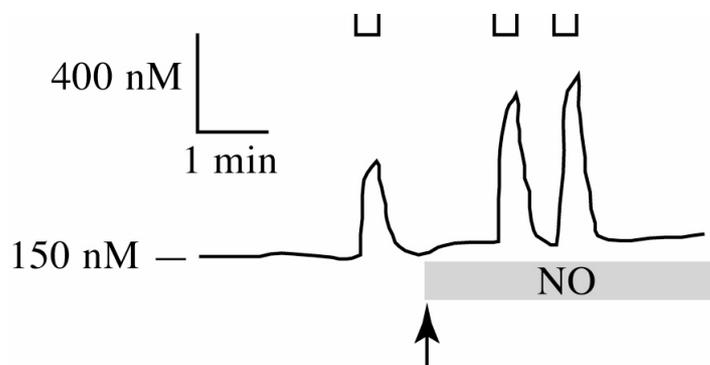


Figure 7 : La concentration en Ca^{2+} intracellulaire $[\text{Ca}^{2+}]_i$ est enregistrée dans une cellule de garde en maintenant le potentiel à -50 mV et en abaissant artificiellement le voltage à -200 mV pendant quelques secondes (indiqué par le symbole U sur le schéma). On ajoute dans le milieu 10 μM SNP (flèche). La barre horizontale indique le temps pendant lequel le NO est produit dans le milieu.

Traitement	[Ca ²⁺] _i au repos (nM)	[Ca ²⁺] _i évoquée (nM)
Aucun	159	452
10 μM SNP	262	741
10 μM SNP + 1 μM ryanodine	165	173
10 μM SNP + 20 μM ODQ	203	551

Tableau 1 : Mesure de la [Ca²⁺]_i comme indiqué sur la figure 7. La mesure au repos est effectuée avec un voltage à -50 mV et la mesure « évoquée » est enregistrée lors de la baisse artificielle du voltage à -200 mV.

Question 25 : Décrivez et analysez l'expérience de la figure 7.

Question 26 : Commentez les résultats que vous donnent le tableau 1. Quelles sont les informations que cette expérience apporte sur le rôle du NO dans les cellules de garde ?

Question de synthèse

Question 27 : En utilisant les résultats des différentes expériences que vous venez de voir, réalisez un schéma de synthèse représentant la réponse de la cellule de garde lors du stress hydrique.