

SESSION 2002

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.

LE GENOME

L'épreuve de Biologie qui vous est proposée sur ce thème comporte **un sujet de synthèse** (durée conseillée 2 h, notation sur le tiers des points de l'épreuve) et **un sujet avec documents** (durée conseillée 4 h, notation sur les deux tiers des points de l'épreuve). Les tableaux et les figures regroupés dans l'annexe sont relatifs au sujet avec documents.

Les trois parties du sujet avec documents sont indépendantes et vous pouvez les aborder dans l'ordre de votre choix. A l'intérieur de chaque partie, de nombreuses questions peuvent également être abordées indépendamment les unes des autres. Les réponses attendues sont celles susceptibles d'être traitées en classes préparatoires aux grandes écoles ; il ne s'agit pas de développer de manière exhaustive les techniques et les approches les plus modernes de la génétique moléculaire. Ces réponses peuvent être courtes, parfois élémentaires, ou simplement descriptives, l'évaluation portant sur la rigueur avec laquelle vous conduirez votre raisonnement et justifierez vos conclusions sur l'ensemble du sujet.

N'oubliez pas que :

- **la clarté, la précision et la concision des réponses et des schémas,**
 - **la construction, l'orthographe, la grammaire et la présentation,**
- font partie intégrante des qualités d'un devoir et seront prises en compte par les correcteurs.**

Il vous est fortement recommandé de **bien gérer votre temps de composition** afin de pouvoir aborder correctement les différentes parties de l'épreuve.

SUJET DE SYNTHESE

L'établissement du phénotype à partir du génotype d'un individu nécessite un processus de développement qui met en jeu des phénomènes de différenciation et la coordination d'un grand nombre d'événements à l'aide de signaux (d'origine interne ou externe par rapport à l'individu, au tissu, à la cellule...).

En utilisant les exemples de votre choix, et en argumentant votre devoir par vos connaissances sur le génome des Eucaryotes, montrez les relations entre le génotype et le phénotype. Vous vous limiterez à l'établissement du phénotype à l'échelle cellulaire.

SUJET AVEC DOCUMENTS

Cartographie et séquençage du génome humain.

Le début du troisième millénaire est marqué par l'aboutissement du séquençage complet du génome humain (3×10^9 paires de bases) : plus de 90% de la séquence sont actuellement connus avec précision et la totalité du génome devrait être couverte à l'horizon 2003. Plusieurs génomes bactériens et quelques génomes d'Eucaryotes (ceux de la Levure *Saccharomyces cerevisiae*, du Nématode *Caenorhabditis elegans*, de la Drosophile *Drosophila melanogaster* et de la Plante *Arabidopsis thaliana*) sont aujourd'hui entièrement séquencés. La séquence complète d'un génome représente un immense gisement d'informations que seul un outil informatique puissant permet d'exploiter.

Une première analyse globale du génome humain a déjà pu être présentée, visant à faire ressortir certaines de ses propriétés caractéristiques, qui peuvent être confrontées aux données expérimentales incomplètes ou indirectes obtenues antérieurement. Des comparaisons exhaustives entre génomes séquencés deviennent possibles, facilitant l'étude de la fonction et de l'évolution des gènes.

Chez un organisme donné, l'hérédité des caractères génétiques est classiquement étudiée au travers de l'observation d'événements de recombinaison survenant au cours de la méiose (qui sont à l'origine des enjambements, ou crossing-over, visibles sur les chromosomes métaphasiques). L'analyse statistique du déroulement d'un grand nombre de méioses montre que la probabilité de ségrégation indépendante de deux caractères portés par un même chromosome augmente avec la distance qui les sépare sur ce chromosome. On définit la distance génétique entre deux loci, exprimée en centimorgans, par le pourcentage de chromatides analysées, dans lesquelles, à l'issue de la méiose, les loci en question ont été séparés par un événement de recombinaison.

Le séquençage des génomes permet maintenant de mesurer des distances physiques entre loci (exprimées en paires de bases), et de constater que, selon les loci concernés, une distance génétique donnée ne correspond pas toujours à la même distance physique. Cette discordance traduit le fait que la probabilité de survenue d'un événement de recombinaison n'est pas constante le long des chromosomes.

Question 1 : Analysez la figure 1 qui illustre cette observation sur l'exemple du chromosome 12 humain. Donnez, pour chaque bras de chromosome, une estimation de la valeur prise par le rapport entre distance génétique et distance physique près du centromère, près du télomère ainsi qu'en moyenne sur l'ensemble du bras. Que constatez-vous ? Montrez que les observations faites

sur le chromosome 12 humain sont en accord avec la nécessité qu'un enjambement au moins survienne sur chaque bras du chromosome pour assurer, en équilibrant les tensions de part et d'autre du plan équatorial du fuseau mitotique, une ségrégation correcte des chromosomes fils à l'anaphase.

Le pourcentage de paires de bases G:C des génomes peut être considéré comme un paramètre caractéristique. Ce pourcentage a été mesuré à partir de la fraction séquencée du génome humain et sa valeur moyenne a été estimée à 41%. La figure 2 présente la distribution du pourcentage de paires de bases G:C sur l'ensemble du génome humain, analysée par fenêtres successives de 20 000 paires de bases (un programme informatique subdivise de manière aléatoire la séquence génomique en segments de 20 000 paires de bases, et calcule le pourcentage de paires de bases G:C de chaque segment).

Question 2 : Analysez globalement les données de la figure 2. En vous basant sur ce que vous savez de la structure des paires de bases rencontrées dans l'ADN et de ses conséquences sur la stabilité de la double hélice, quelles conclusions pouvez-vous tirer de cette analyse ?

La figure 3 indique la densité relative de gènes (nombre de gènes identifiés par unité de longueur d'ADN séquencé) en fonction du pourcentage de paires de bases G:C des régions correspondantes du génome.

Question 3 : Analysez qualitativement ces résultats en les confrontant à ceux présentés dans la figure 2. Qu'en déduisez-vous ?

Parmi les séquences riches en paires de bases G:C, on trouve des regroupements de dinucléotides 5'-CG-3' appelés "îlots CpG". Dans le cas de gènes ayant fait l'objet d'une étude individuelle, la présence de ces îlots, associés aux régions de contrôle de la transcription, a souvent été observée.

Question 4 : Commentez les données de la figure 4 qui concernent la répartition des gènes et celle des îlots CpG sur les différents chromosomes humains.

L'absence de corrélation entre la complexité apparente des êtres vivants et la taille de leur génome constitue ce qu'on appelle le "paradoxe de la valeur C".

Le nombre de gènes identifiés d'après la séquence complète de leur génome s'élève respectivement à 32 000 chez l'Homme, à 13 000 chez la Drosophile, à 18 000 chez *Caenorhabditis*, à 6000 chez la Levure et à 26 000 chez *Arabidopsis*.

Question 5 : A partir de ces valeurs et des données de la figure 5, que pouvez-vous dire :

- d'une part, du rapport entre la taille des génomes et le nombre de gènes qu'ils contiennent ;
- d'autre part, du rapport entre la complexité apparente des organismes et la taille de leur génome ? Indiquez ce qui, dans la constitution de son génome, contribue à la complexité d'un être vivant et proposez une explication au paradoxe de la valeur C.

A partir de la seule lecture de la séquence de l'ADN, il est plus difficile d'identifier des gènes dans un génome de grande taille comme le génome humain, que dans des génomes de taille plus réduite comme ceux des Bactéries.

Question 6 : Expliquez pourquoi et indiquez quelles approches complémentaires peuvent être mises en œuvre pour faciliter l'identification des gènes au sein d'un grand génome. On se limitera ici aux gènes qui codent des polypeptides.

Question 7 : A partir des données des figures 6 à 8, analysez la façon dont varient la taille des exons et la taille des introns chez l'Homme, chez *Caenorhabditis* et chez la *Drosophile*. Quelles conclusions pouvez-vous tirer de cette analyse ?

Les produits ultimes de l'expression de milliers de gènes humains sont, non pas des protéines, mais des ARN dits non codants.

Question 8 : Parmi ceux-ci, grâce à quelles caractéristiques peut-on reconnaître les gènes des ARN de transfert ?

Chez les Procaryotes, l'abondance relative des ARN de transfert porteurs d'un anticodon particulier reflète la fréquence de représentation, au sein des ARN messagers, des codons qu'ils reconnaissent.

Question 9 : D'après les données de la figure 9 que vous commenterez, qu'en est-il chez l'Homme ? On admettra que l'abondance d'un ARN de transfert donné est directement proportionnelle au nombre de copies du gène à partir duquel il est synthétisé.

Les organismes dont le génome a été séquencé se révèlent posséder un certain nombre de gènes propres au phylum auquel ils appartiennent, et dépourvus de toute similitude avec des gènes d'organismes qui ne font pas partie de ce phylum.

Question 10 : Quelle(s) hypothèse(s) pouvez-vous émettre concernant le sort subi par ces gènes au cours de l'évolution ?

Un peu plus de 200 protéines humaines offrent des similitudes avec des protéines bactériennes relativement répandues, mais ne présentent aucune similitude avec des protéines d'Eucaryotes autres que les Vertébrés.

Question 11 : En vous inspirant de la réponse apportée à la question précédente et en la complétant, proposez une ou plusieurs hypothèses simples permettant de rendre compte de cette observation.

Etude du profil d'expression des gènes d'*Arabidopsis thaliana*.

N.B. : Dans cette partie, les questions 13 à 20 peuvent être traitées indépendamment de la question 12.

Le contrôle génétique et environnemental du développement des Plantes repose sur des variations, dans l'espace et au cours du temps, de la distribution d'hormones végétales telles que l'auxine.

Question 12 : *Rappelez brièvement (10 lignes maximum) quelle est l'action de cette hormone.*

Des perturbations de la répartition des hormones dans l'organisme végétal engendrent souvent des altérations phénotypiques multiples, au niveau cellulaire ou au niveau de la plante entière, incluant par exemple des anomalies de la morphogenèse des organes, ou des défauts de croissance en réponse à la lumière ou à la gravité.

Le transport polarisé de l'auxine a été étudié chez la Plante *Arabidopsis thaliana*. Ce transport s'effectue dans le végétal à travers de longues files de cellules, grâce à un transporteur spécifique PIN1 de la membrane plasmique, qui fait sortir l'auxine de la cellule. L'action de ce transporteur est bloquée par un inhibiteur chimique, le NPA (acide N-1-naphtylphthalamique), qui se lie à une protéine membranaire distincte de PIN1, appelée NBP ("NPA binding protein"). La protéine NBP n'est pas encore bien caractérisée, mais on sait qu'elle peut former un complexe avec PIN1 et que le NPA n'entre pas en compétition avec l'auxine lorsque celle-ci se lie au transporteur.

Un mutant *doc*, monogénique, a été isolé chez *Arabidopsis thaliana*. Il présente un phénotype complexe et se trouve affecté dans certains aspects de la photomorphogenèse du végétal. On étudie, en parallèle chez la plante sauvage et chez le mutant *doc*, d'une part l'expression à l'obscurité du gène *CAB2* codant une protéine du photosystème II qui lie la chlorophylle (figure 10), d'autre part le transport de l'auxine (figure 11). Par une expérience de Northern blot similaire à celle décrite dans la figure 10, on montre que la quantité d'ARN messager *CAB2* synthétisée par la plante sauvage est 15 fois plus élevée à la lumière qu'à l'obscurité.

Question 13 : *Interprétez les résultats de ces expériences et précisez quelle est, selon vous, la localisation de la protéine CAB2, au niveau cellulaire et dans la plante entière.*

On dispose d'un mutant *yucca* d'*Arabidopsis thaliana* surproducteur d'auxine, à partir duquel on a pu obtenir un double mutant homozygote *yucca doc*. La mutation *yucca* touche un seul gène, distinct de celui qui porte la mutation *doc*, elle n'affecte pas le transport de l'auxine. La photomorphogenèse du double mutant *yucca doc* est normale.

L'expression, à l'obscurité, du gène *CAB2* est étudiée chez les plantes sauvage, *doc*, *yucca*, et *yucca doc*. Les résultats sont présentés dans la figure 12.

Question 14 : Analysez l'effet des mutations *yucca* et *doc*, prises séparément ou associées, sur l'expression du gène *CAB2* à l'obscurité et proposez un modèle permettant de relier la régulation de l'expression du gène *CAB2* au transport de l'auxine.

Pour tenter de généraliser les observations faites sur le gène *CAB2*, l'étude de l'expression des gènes d'*Arabidopsis thaliana* à l'obscurité, chez les mutants *doc*, *yucca*, et *yucca doc* a été étendue à l'ensemble du génome de la Plante, grâce à la technologie des puces à ADN (cf. légende du tableau 1). Pour un échantillon des gènes analysés, le tableau 1 indique la quantité d'ARN messager produite par chacun des trois mutants, rapportée à la quantité d'ARN messager produite par la plante sauvage.

Question 15 : Analysez pour ces gènes les effets de la mutation *yucca* tels qu'ils se manifestent chez le double mutant *yucca doc*, et comparez ces résultats à ceux obtenus précédemment (figure 12). Toujours d'après les données du tableau 1, que pensez-vous du profil d'expression, chez les différents mutants, du gène codant une protéine de réponse à l'auxine (dernière ligne du tableau), et de celui de quelques gènes que l'on peut supposer être activement transcrits en présence de lumière ?

La caractérisation du produit du gène d'*Arabidopsis thaliana* touché par la mutation *doc* montre qu'il s'agit d'une protéine de grande taille (que les chercheurs ont dénommée BIG) conservée au cours de l'évolution : des homologues de cette protéine sont codés par les génomes de *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* et *Homo sapiens*. Chez la Drosophile, il s'agit de la calossine, une protéine impliquée dans la transmission synaptique à la jonction neuromusculaire, à l'étape de libération des neurotransmetteurs en réponse à une stimulation nerveuse. La mutation *doc* chez *Arabidopsis thaliana* a pour conséquence la substitution d'un résidu cystéine par un résidu tyrosine dans une région fonctionnellement importante de la protéine BIG.

Le transporteur PIN1, protéine très stable, est mis en évidence par immunofluorescence sur des pointes de racines d'*Arabidopsis thaliana* sauvage et d'*Arabidopsis thaliana doc* traitées par le NPA (figure 13, clichés a et b). Un marqueur de la membrane plasmique, utilisé en parallèle mais non représenté ici, a permis de vérifier que le signal spécifique de PIN1 est associé à la membrane plasmique en 13a mais non en 13b.

En l'absence de NPA, la localisation du transporteur PIN1 est identique chez la plante sauvage et chez le mutant *doc*, elle correspond à celle observée chez la plante sauvage traitée par le NPA (figure 13a).

Question 16 : Quel est l'effet de la mutation doc sur la localisation du transporteur PIN1 ?

Sur la plante sauvage uniquement, afin de compléter les observations faites avec le NPA, un autre inhibiteur a été testé : la bréfeldine A (BFA). Les résultats de ces expériences – et de celles qui précèdent – sont résumés dans le tableau 2.

Dans les racines traitées pendant 2 heures par la BFA, la localisation du transporteur PIN1 est celle présentée dans la figure 13b. Après ce traitement, si on élimine l'inhibiteur par lavage, la localisation du transporteur est celle décrite dans la figure 13a.

Question 17 : Que pouvez-vous déduire de ces deux expériences quant à l'effet de la BFA sur la localisation du transporteur PIN1 dans les cellules de racines d'Arabidopsis ? Sachant que la BFA agit en bloquant le processus d'exocytose, que pouvez-vous ajouter concernant la localisation du transporteur PIN1 dans des conditions physiologiques normales (chez la plante sauvage en l'absence de tout inhibiteur) ?

Dans des racines traitées pendant 30 minutes par le NPA, puis pendant 2 heures par un mélange de BFA et de NPA, la localisation du transporteur PIN1 est identique à celle décrite dans la figure 13a. Dans des racines traitées pendant 2 heures par la BFA seule, si on ajoute du NPA lors de l'élimination de la BFA par lavage, on obtient le résultat présenté dans la figure 13b.

Question 18 : D'après ces expériences, quel peut être l'effet du NPA sur la localisation de PIN1 ?

Question 19 : En faisant la synthèse de toutes les données disponibles, précisez :

- si la protéine BIG peut être identique à la protéine NBP ;
- quel rôle la protéine BIG peut jouer dans la cellule ;
- quelle peut être l'action du NPA sur le complexe NBP/PIN1.

Question 20 : Pour conclure, proposez, à l'aide d'un schéma, un modèle intégrant le transport de l'auxine par PIN1 et l'action du NPA et de la BFA chez la plante sauvage, en indiquant ce qu'ils deviennent chez le mutant doc.

Génomique fonctionnelle du développement chez *Caenorhabditis elegans*.

Le Nématode *Caenorhabditis elegans*, premier Métazoaire dont le génome ait été entièrement séquencé, occupe une place privilégiée dans les études actuelles de génomique fonctionnelle. Sur ce modèle expérimental de manipulation aisée, l'inactivation systématique de gènes individuels peut être pratiquée à l'échelle du génome entier grâce à la technique, très efficace chez cet organisme, de l'interférence par ARN, dont le principe est le suivant : un ARN double brin produit artificiellement et dont la séquence est celle d'une courte portion du gène à inactiver, est introduit chez l'animal (par exemple par voie orale) ; il bloque alors l'expression de ce gène dans tous les tissus de l'animal traité, par un mécanisme hautement spécifique non encore complètement élucidé.

Les vers chez lesquels on cherche à inactiver un gène donné sont nourris de bactéries *Escherichia coli* recombinantes produisant l'ARN double brin correspondant. Toutes les cellules de l'organisme sont touchées par le traitement, ce qui permet l'observation du phénotype résultant éventuel chez l'animal traité, à l'état de larve ou d'adulte, mais aussi chez ses descendants, en particulier au cours du développement.

La détermination de la séquence du chromosome I de *Caenorhabditis elegans* permet de prédire l'existence de 2769 gènes de distribution homogène le long de ce chromosome. L'inactivation systématique individuelle de ces gènes a été tentée grâce à la technique d'interférence par ARN. Un phénotype mutant, conséquence de l'inactivation, a pu être assigné à 339 d'entre eux. La distribution de ces 339 gènes le long du chromosome I de *Caenorhabditis elegans*, analysée sur 10 portions consécutives contenant chacune 10% des gènes du chromosome, est représentée sur la figure 14.

Question 21 : Calculez quelle fraction des gènes visés sur le chromosome I de Caenorhabditis elegans représentent les 339 gènes inactivés et commentez leur distribution, sachant que deux régions du chromosome I regroupent de nombreux gènes dupliqués dont les copies ont modérément divergé par mutation.

Les phénotypes obtenus avec les 339 gènes inactivés du chromosome I de *Caenorhabditis elegans* ont été classés en cinq grandes catégories (A-E) d'après leurs manifestations chez l'animal traité ou sa descendance : A) stérilité, B) létalité embryonnaire, C) retard de développement embryonnaire ou larvaire, D) létalité larvaire, E) manifestations post-larvaires viables visibles chez l'adulte. Le nombre de gènes dont l'inactivation engendre un phénotype entrant dans chacune de ces catégories est indiqué dans le tableau 3.

Question 22 : Calculez quelle fraction des 339 gènes identifiés englobe chaque catégorie. Que remarquez-vous ?

Grâce à la technique des puces à ADN (cf. légende du tableau 1), le profil d'expression des gènes de *Caenorhabditis elegans* a pu être déterminé à différents stades du développement (embryonnaire, larvaires L1 à L4, jeune adulte), afin d'identifier des ensembles de gènes qui y sont spécifiquement actifs. La figure 15 illustre le résultat obtenu sur un petit échantillon de gènes de *Caenorhabditis elegans*, les sept identifiés, d'après leur séquence, comme codant des cyclines, petites protéines qui contrôlent le déroulement du cycle cellulaire.

Question 23 : A l'aide de la représentation donnée par la figure 15, analysez l'expression des gènes des cyclines en fonction des stades du développement de Caenorhabditis elegans. Quelle relation pouvez-vous établir entre les stades où ces gènes sont le plus fortement exprimés et la fonction des protéines codées ?

Sur le chromosome I de *Caenorhabditis elegans*, 21% des gènes ont un homologue chez la Levure, la Drosophile ou l'Homme ; en revanche, 47% des gènes dont l'inactivation engendre un phénotype mutant possèdent un homologue chez l'un de ces trois organismes. De même, parmi les gènes qui ont un homologue chez la Levure, la Drosophile ou l'Homme, et parmi ceux qui n'en possèdent pas, 27% et 8%, respectivement, donnent un phénotype mutant après inactivation.

Question 24 : A l'aide d'un schéma, présentez une synthèse de ces données. Quelle conclusion simple pouvez-vous en tirer ?

Un homologue chez *Caenorhabditis elegans* a pu être identifié pour 70 gènes humains directement impliqués dans des pathologies importantes telles que la myopathie de Duchenne ou la mucoviscidose (les gènes concernés codent une protéine du cytosquelette et un canal ionique, respectivement).

Question 25 : Indiquez, en quelques lignes, quelles retombées on peut attendre de cette découverte dans l'étude des maladies génétiques humaines.

ANNEXE

Protéines codées par les ARN messagers analysés	<i>doc / s</i>	<i>yucca / s</i>	<i>yucca doc / s</i>
Chalcone synthétase	16,1	0,63	2,10
Sous-unité Lhcb2 du photosystème II	6,40	1,00	1,20
Glycérol 3-phosphate perméase	6,30	10,9	3,80
Coumarate:coenzyme A ligase 2	5,00	0,77	2,40
Chaperonine mitochondriale HSP60	4,90	1,80	0,83
Glutathion S-transférase	4,80	1,00	1,00
Thaumatine	4,30	1,50	0,91
Cytochrome P450	4,20	1,50	1,00
Précurseur de la sous-unité IV du photosystème I	4,10	1,70	1,30
Squalène époxydase	4,00	4,70	4,50
Anhydrase carbonique	3,90	0,24	1,00
Petite sous-unité de l'ADP-glucose pyrophosphorylase	3,60	1,60	1,40
Thiorédoxine	3,40	2,50	1,60
Peroxydase	3,30	1,40	3,80
Protéine structurale riche en glycine de la paroi	3,20	1,00	1,50
Xyloglucane fucosyltransférase	3,20	1,30	1,90
Précurseur de la sous-unité VI du photosystème I	3,20	1,50	1,20
Protéine précoce inductible par la lumière	3,20	2,10	0,91
Glucanase	3,10	1,50	1,10
Cellulose synthétase	3,00	1,00	1,80
Protéine liant la chlorophylle	3,00	1,60	1,10
Nitrate réductase	3,00	2,20	2,00
Beta-glucosidase	0,30	0,27	0,77
Sous-unité alpha de la céto-acide déshydrogénase E1	0,29	1,50	1,00
l-Aminocyclopropane-1-carboxylate oxydase	0,27	0,14	1,10
Cytochrome b561	0,26	2,00	0,71
Transporteur de peptides	0,26	1,20	0,29
Noduline	0,24	0,25	0,26
Anthranilate N-benzoyltransférase	0,24	1,20	0,53
Cyanhydrine lyase	0,23	2,90	0,56
L-allothréonine aldolase	0,20	1,50	0,91
Protéine de réponse à l'auxine	0,19	8,00	1,20

Tableau 1 : Modifications de l'expression des gènes chez les mutants *Arabidopsis thaliana doc*, *yucca*, et *yucca doc*. Dans le tableau, la colonne de gauche mentionne le produit des gènes dont on examine les variations d'expression. Les trois dernières colonnes indiquent, pour chacun de ces gènes, la valeur du niveau d'expression observé chez chacun des trois mutants, divisée par la valeur du niveau d'expression chez la plante sauvage.

Technique des puces à ADN : La connaissance de la séquence complète du génome d'un organisme permet de synthétiser, pour chacun des gènes que l'on peut y rencontrer, une sonde nucléotidique spécifique. Les sondes sont greffées sur un support et permettent de quantifier, par hybridation, l'ARN messenger produit à partir de chaque gène dans un échantillon donné. La miniaturisation et l'automatisation du procédé, ainsi que le traitement informatique des données qu'il engendre, permettent d'établir le profil d'expression de la quasi-totalité des gènes de l'organisme étudié, dans différents tissus, chez divers mutants, à différents stades du développement ou dans des conditions physiologiques particulières.

Plante étudiée	Premier ou unique traitement	Second traitement s'il y a lieu	Résultat obtenu
Sauvage	Aucun		Figure 13a
Mutant <i>doc</i>	Aucun		Figure 13a
Sauvage	NPA		Figure 13a
Mutant <i>doc</i>	NPA		Figure 13b
Sauvage	BFA		Figure 13b
Sauvage	BFA	Elimination de la BFA	Figure 13a
Sauvage	NPA	BFA + NPA	Figure 13a
Sauvage	BFA	Elimination de la BFA en présence de NPA	Figure 13b

Tableau 2 : Effet du NPA et de la BFA sur la localisation du transporteur PIN1 dans les racines d'*Arabidopsis thaliana*

Catégories	Phénotypes	Nombre de gènes
A	Stérilité	96
B	Létalité embryonnaire	226
C	Retard de développement	145
D	Létalité larvaire	197
E	Post-larvaire	59
A-E	Tous phénotypes confondus	339

Tableau 3 : Phénotypes résultant de l'inactivation des gènes du chromosome I de *Caenorhabditis elegans* grâce à la technique de l'interférence par ARN.

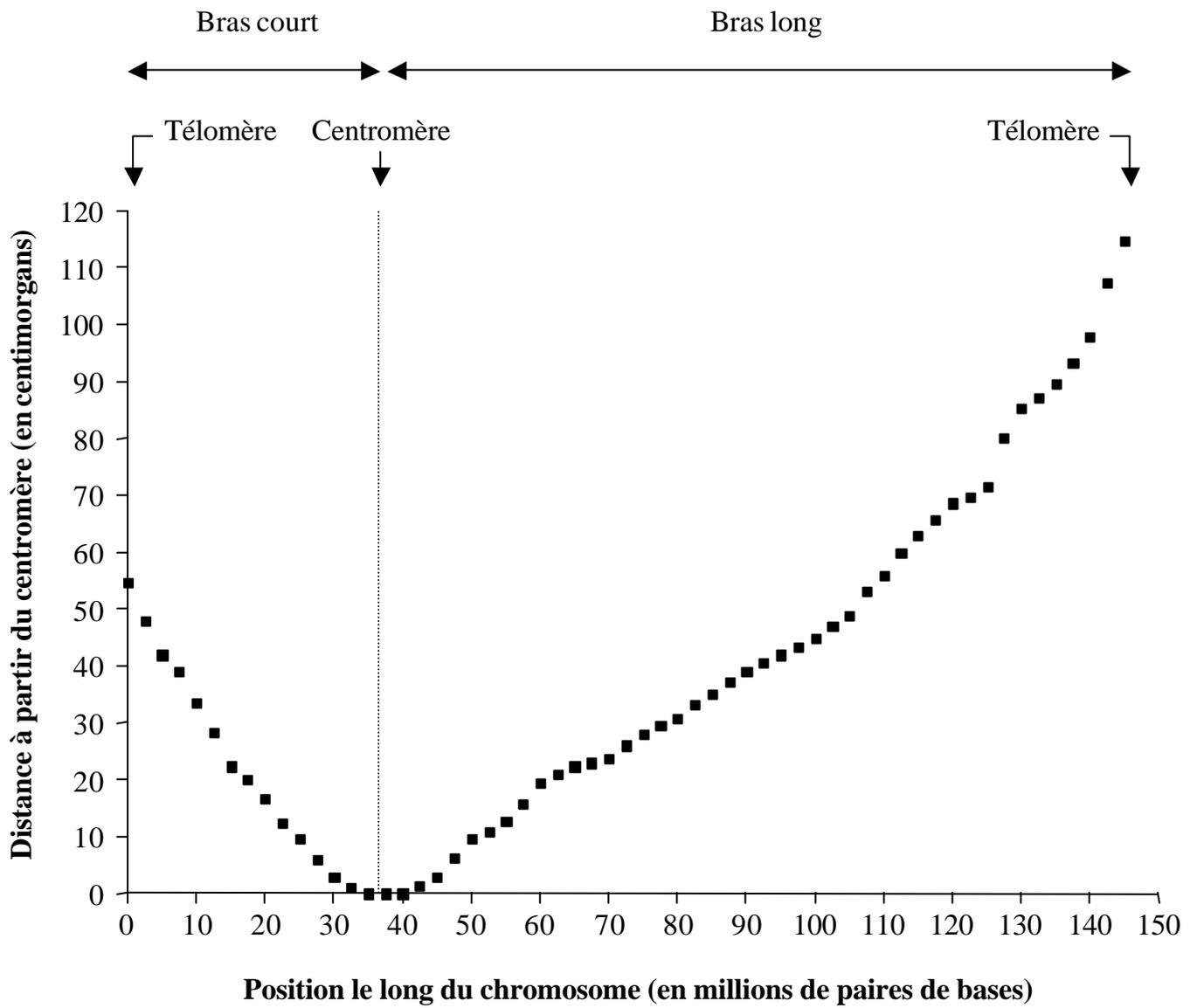


Figure 1 : Fréquence de recombinaison le long du chromosome 12 humain.

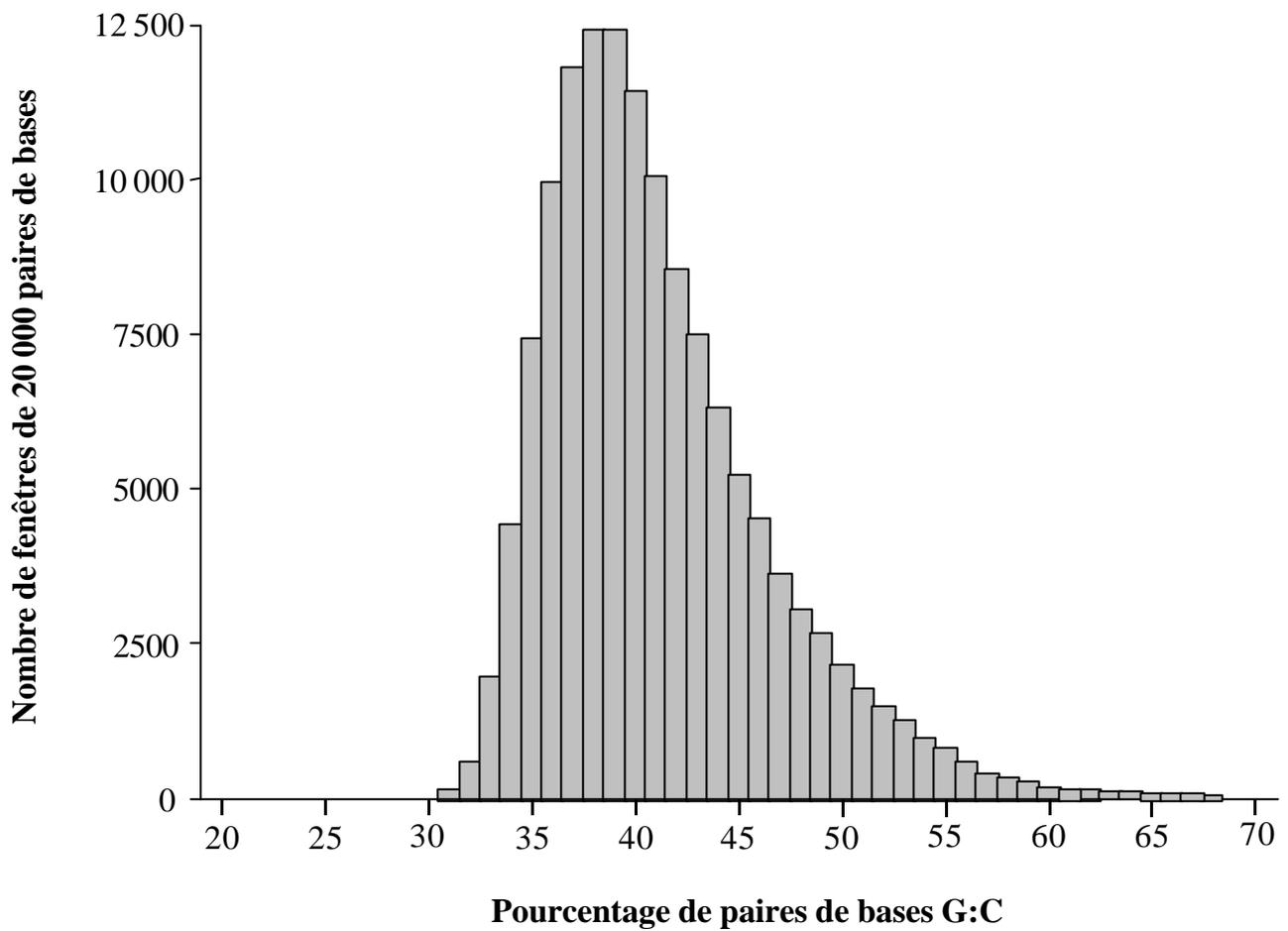


Figure 2 : Contenu en paires de bases G:C du génome humain analysé par fenêtres de 20 000 paires de bases.

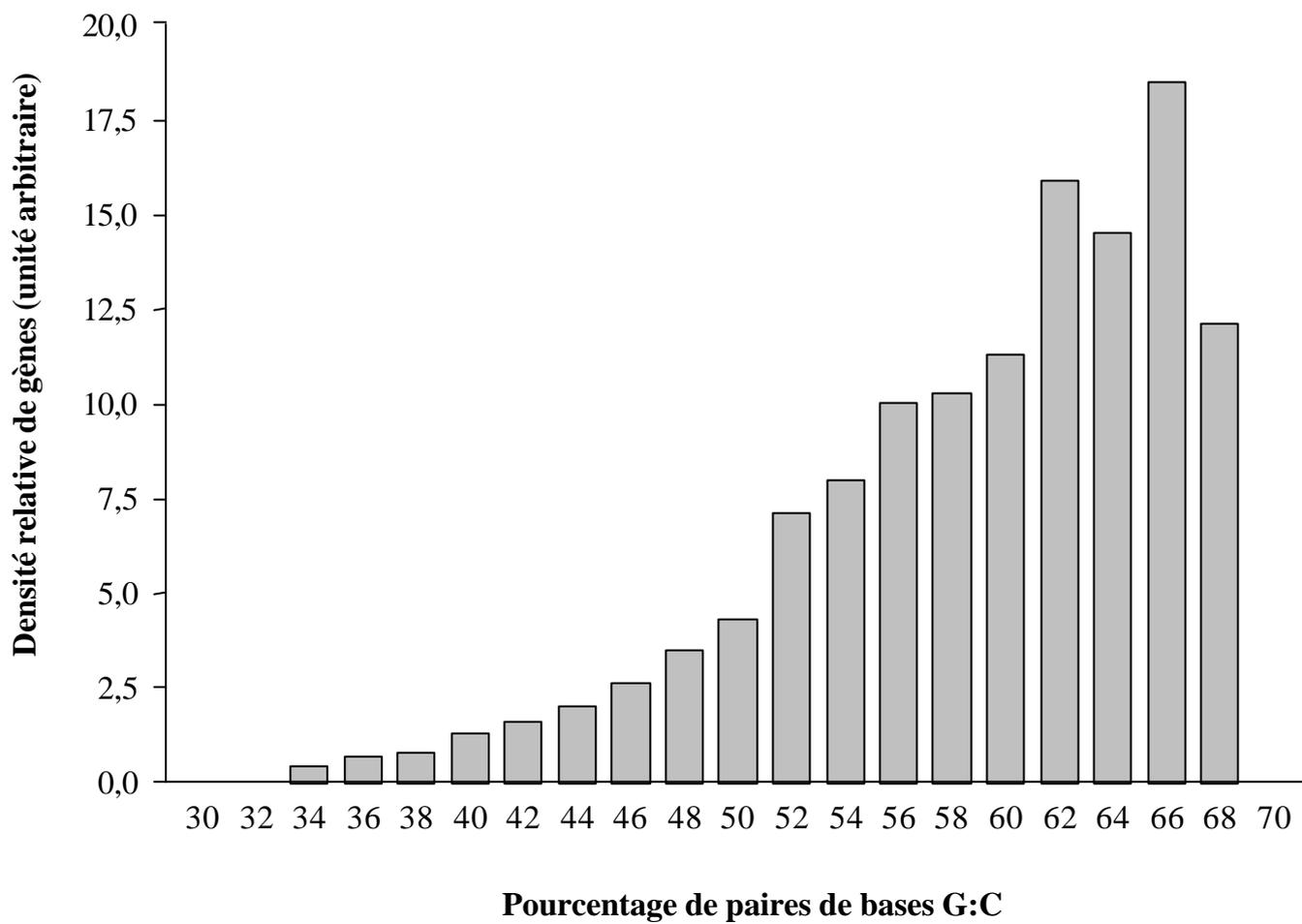


Figure 3 : Densité de gènes et contenu en paires de bases G:C du

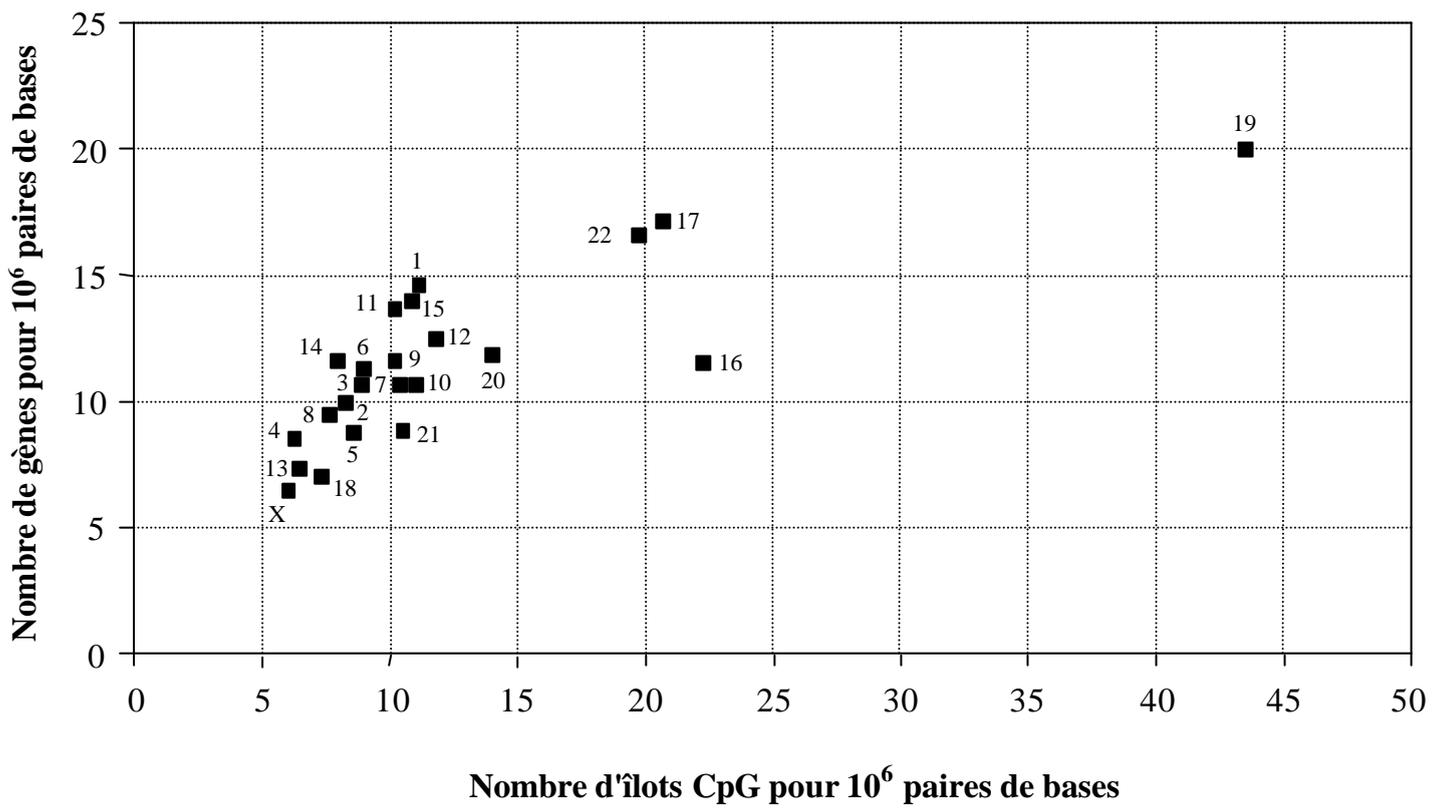


Figure 4 : Densité de gènes et d'îlots CpG sur les différents chromosomes humains.

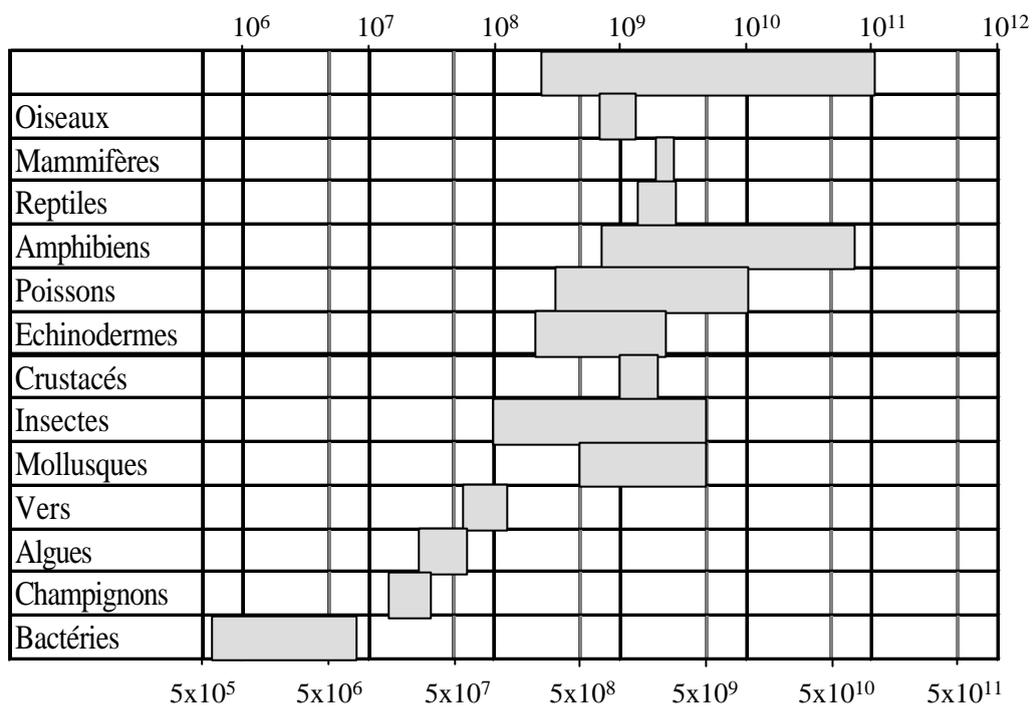


Figure 5 : Taille du génome des êtres vivants. Les boîtes en grisé indiquent les valeurs que peut prendre la taille du génome haploïde (en paires de bases) au sein de chaque groupe d'organismes représenté.

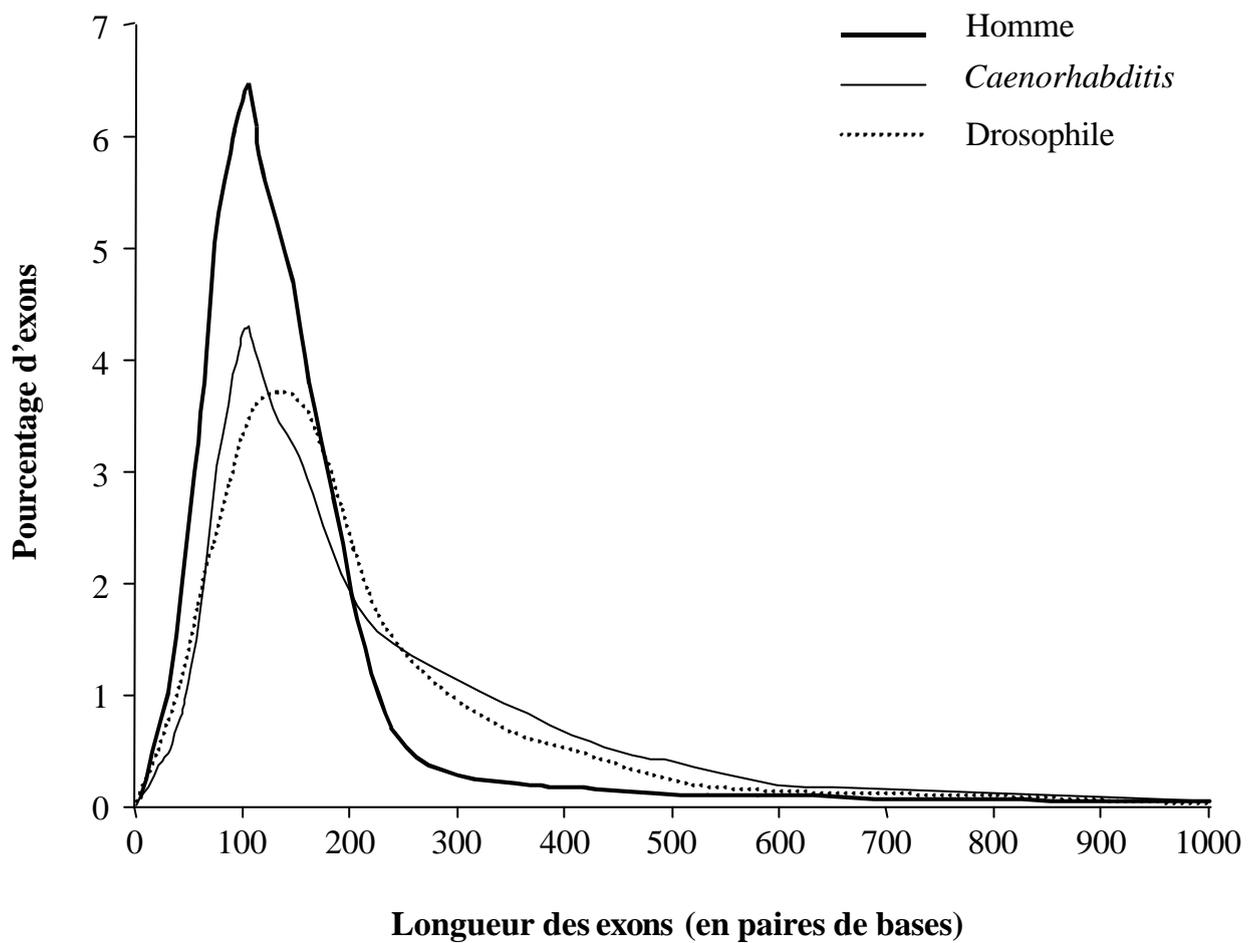


Figure 6 : Taille des exons chez l'Homme, chez *Caenorhabditis* et chez la Drosophile. La figure a été établie à partir d'histogrammes (*cf.* figure 7), les sommets des barres ayant été reliés par des courbes pour plus de lisibilité.

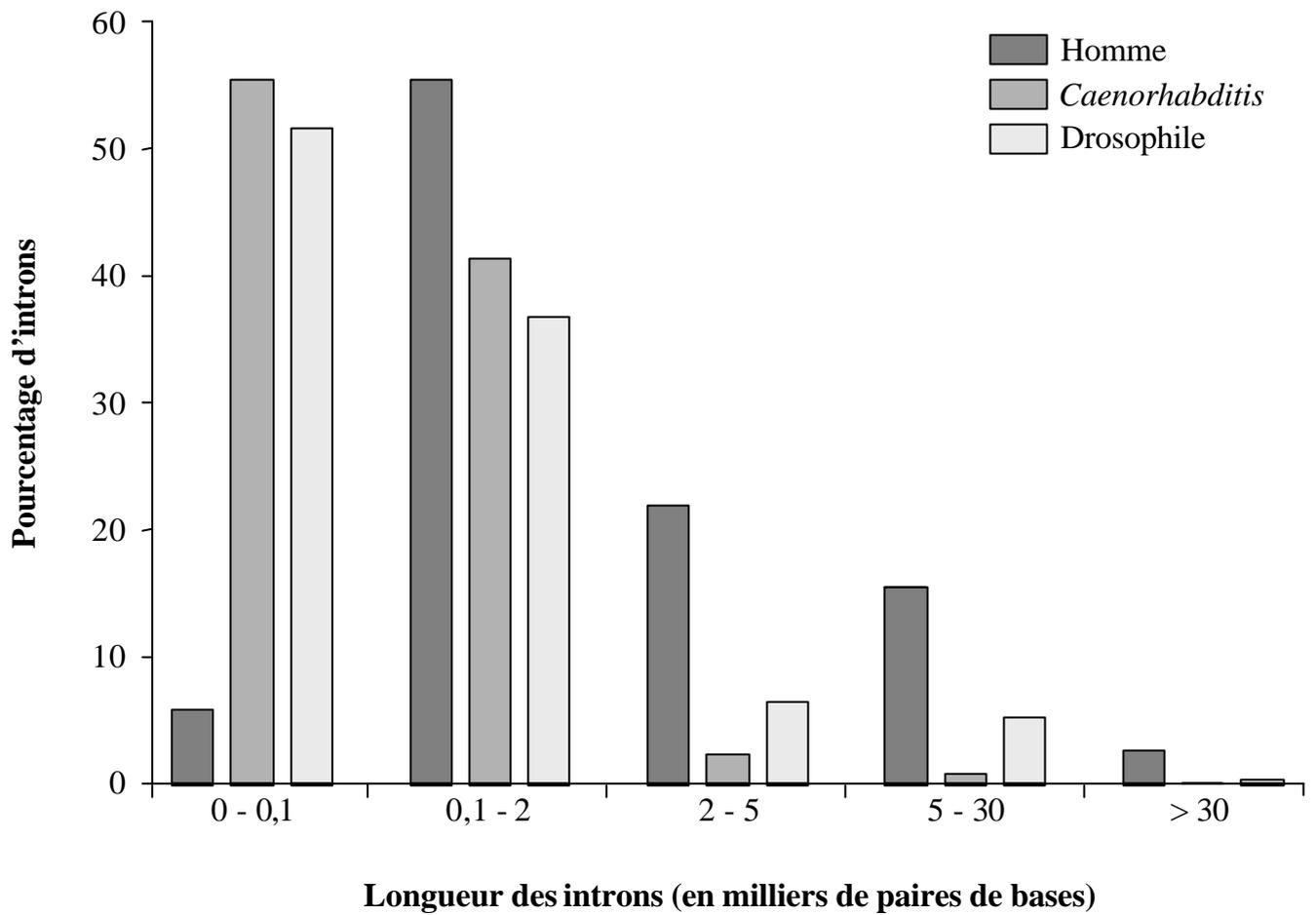


Figure 7 : Taille des introns chez l'Homme, chez *Caenorhabditis* et chez la *Drosophila*.

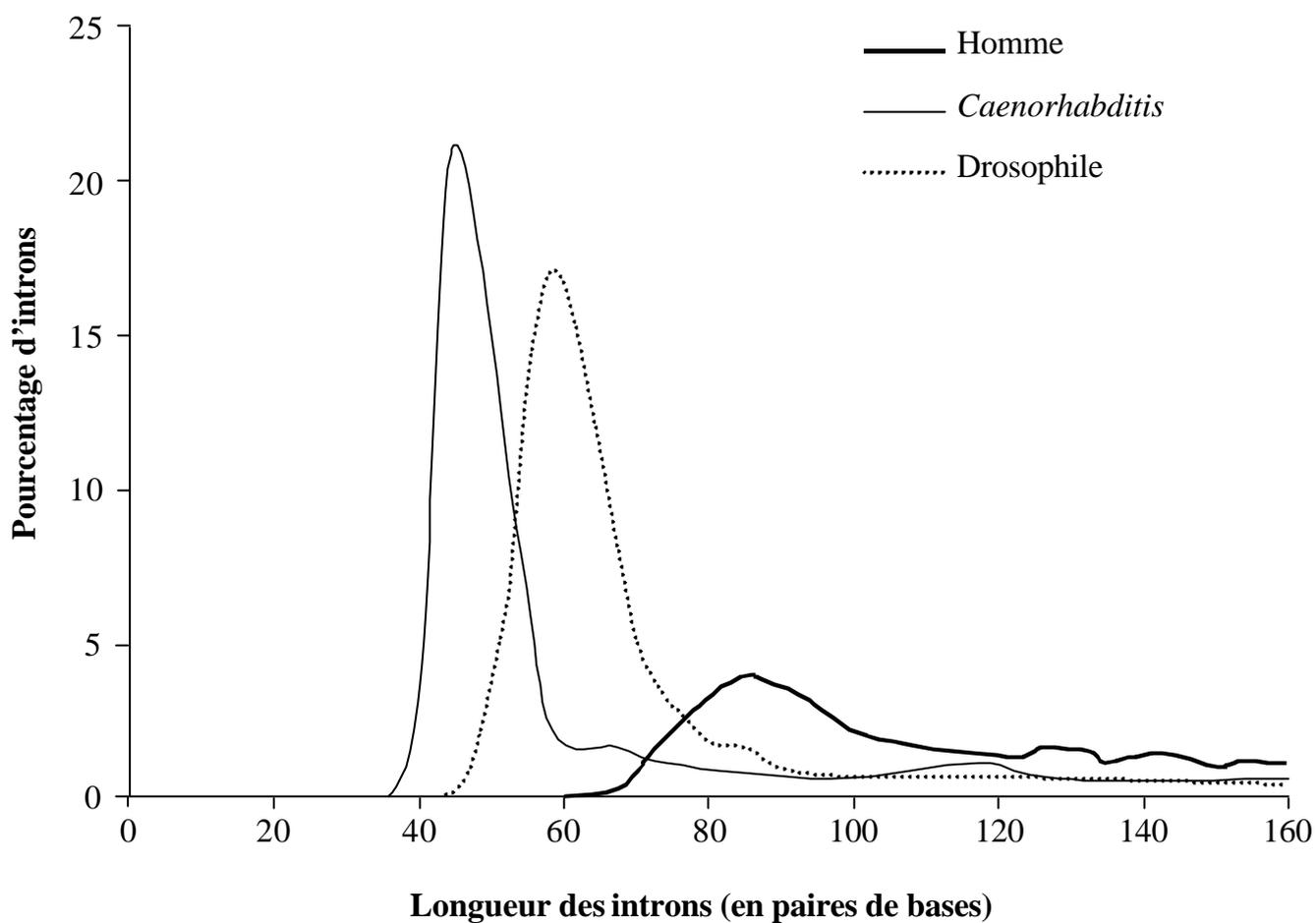


Figure 8 : Taille des introns les plus courts chez l'Homme, chez *Caenorhabditis* et chez la *Drosophile*. La figure a été établie à partir d'histogrammes (*cf.* figure 7), les sommets des barres ayant été reliés par des courbes pour plus de lisibilité.

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>		<i>d</i>	<i>e</i>
Leu	69	CUA	-----	UAG	2
Leu	392	CUG	-----	CAG	6
Asp	230	GAU	-----	AUC	0
Asp	262	GAC	-----	GUC	10
Phe	171	UUU	-----	AAA	0
Phe	203	UUC	-----	GAA	14
Met	221	AUG	-----	CAU	17
Ala	185	GCU	-----	AGC	25
Ala	282	GCC	-----	GGC	0
Cys	99	UGU	-----	ACA	0
Cys	119	UGC	-----	GCA	30

Figure 9 : Code génétique et ARN de transfert utilisés chez l'Homme.

représentatif de couples codon / anticodon est analysé. Colonne *a*, acide aminé ; colonne *c*, codon correspondant dans l'ARN messenger (de 5' vers 3') ; colonne *b*, fréquence à laquelle ce codon est rencontré (pour 10 000 codons analysés) ; colonne *d*, anticodon porté par l'ARN de transfert (de 5' vers 3') ; colonne *e*, nombre de gènes d'ARN de transfert porteurs de cet anticodon. Les traits pointillés indiquent la reconnaissance codon / anticodon.

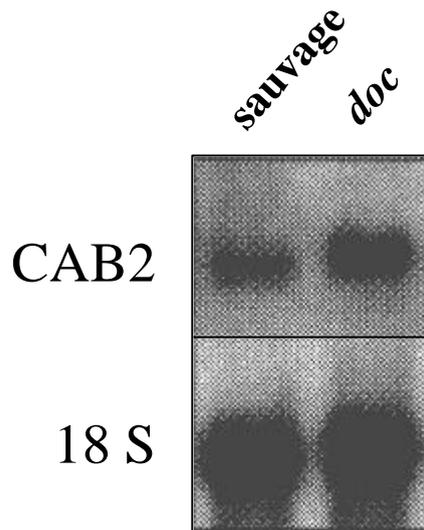
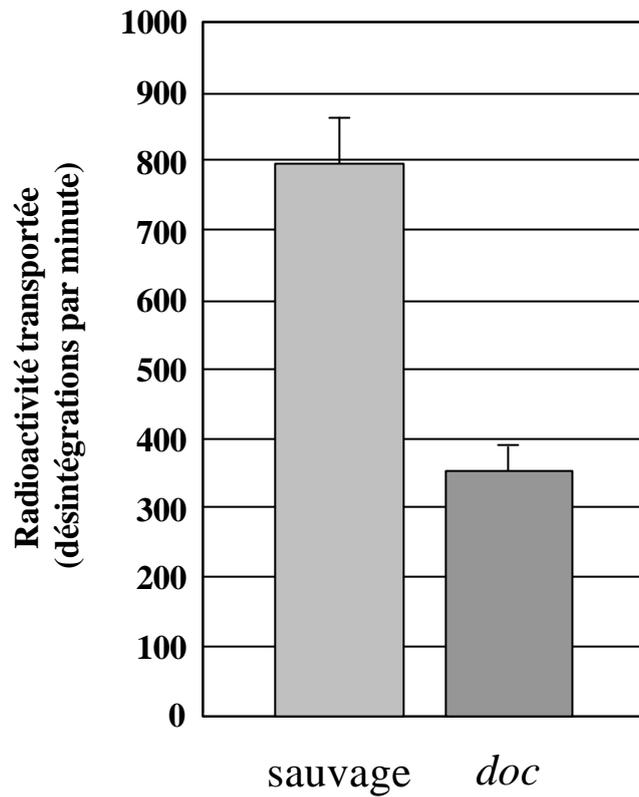


Figure 10 : Expression du gène *CAB2* à l'obscurité chez *Arabidopsis thaliana* sauvage et chez le mutant *Arabidopsis thaliana doc*. L'expression du gène *CAB2* est analysée par la technique du Northern blot : 5 µg d'ARN totaux extraits de chaque plante, sauvage ou mutante, sont soumis à une électrophorèse en gel d'agarose dénaturant, transférés sur une membrane de nylon et hybridés avec une sonde radioactive correspondant à l'ADN complémentaire *CAB2*. La membrane est autoradiographiée, l'intensité du signal donné par la sonde radioactive *CAB2* est proportionnelle à la quantité d'ARN messenger *CAB2* présente dans l'échantillon analysé. Une deuxième sonde radioactive s'hybridant spécifiquement à l'ARN ribosomique 18 S permet de vérifier que la même quantité d'ARN totaux a bien été transférée sur la membrane à partir des deux échantillons, sauvage et mutant.



du segment est placé dans une solution nutritive contenant 1 μM d'auxine marquée au ^{14}C . Au bout de 18 heures, la quantité de radioactivité activement transportée à l'extrémité basale du segment est mesurée. Chaque barre du diagramme représente la moyenne des valeurs obtenues pour 10 segments analysés, la barre d'erreur indiquant l'écart-type.

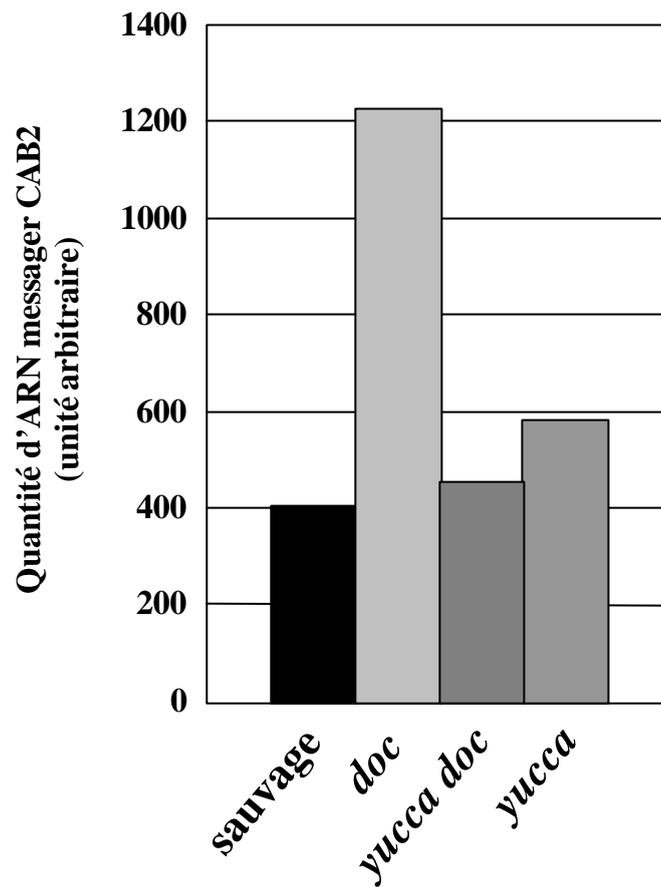


Figure 12 : Expression du gène *CAB2* à l'obscurité chez *Arabidopsis thaliana* sauvage et chez les mutants *doc*, *yucca* et *yucca doc*. Comme dans l'expérience décrite dans la figure 10, la quantité d'ARN messenger *CAB2* a été mesurée chez les plantes sauvage et mutantes. Elle est ici

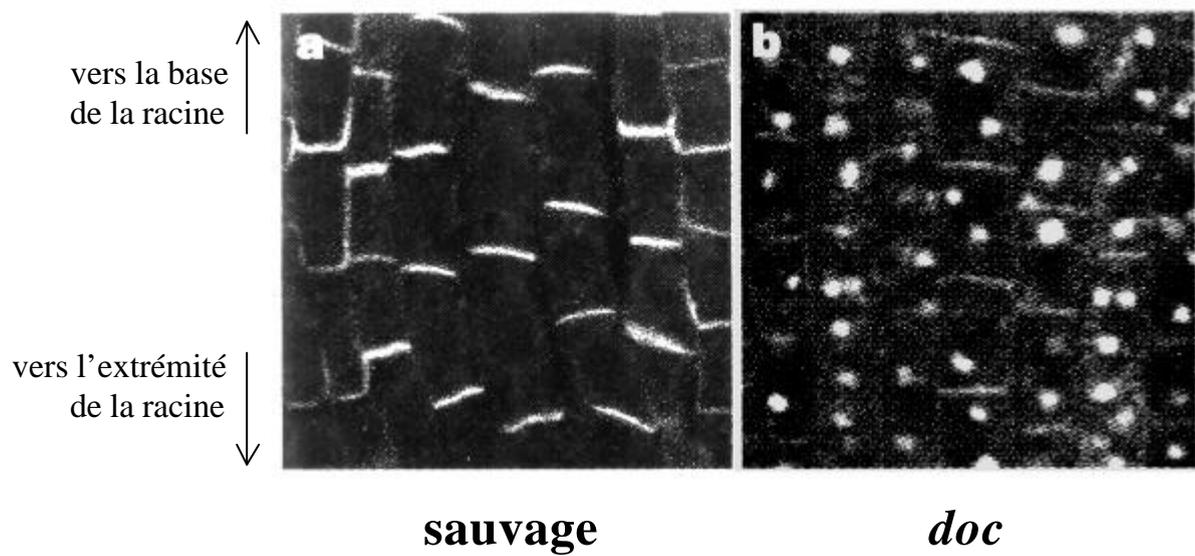


Figure 13 : Localisation du transporteur PIN1 dans les cellules des racines chez *Arabidopsis thaliana* sauvage et chez le mutant *doc*. Des pointes de racines de plante sauvage ou mutante sont traitées par 150 μ M de NPA pendant 3 heures, incubées en présence d'un anticorps fluorescent dirigé contre le transporteur PIN1 et observées au microscope à fluorescence. Le signal lumineux observé sur les préparations permet d'y localiser l'anticorps.

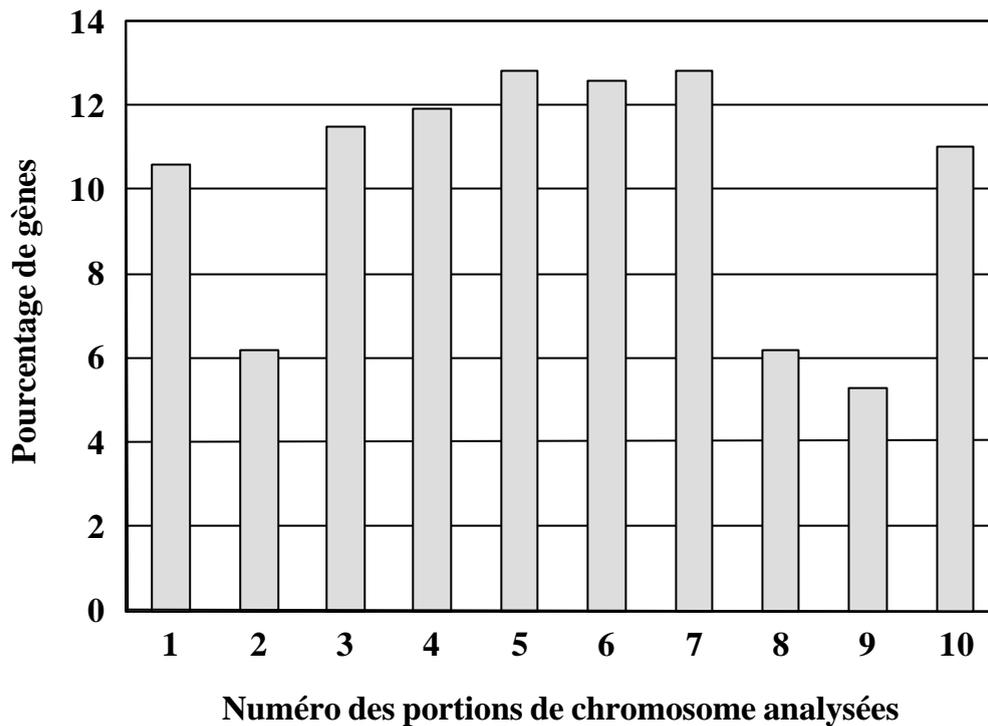


Figure 14 : Distribution, le long du chromosome I de *Caenorhabditis elegans*, des 339 gènes dont l'inactivation induit un phénotype mutant. Le chromosome I est analysé en 10 portions consécutives contenant chacune 10% de la totalité des gènes qui ont pu être identifiés sur ce chromosome sur la base de sa séquence nucléotidique complète. Chaque barre de l'histogramme indique quel pourcentage des 339 gènes dont l'inactivation induit un phénotype mutant on retrouve dans la portion de chromosome correspondante.

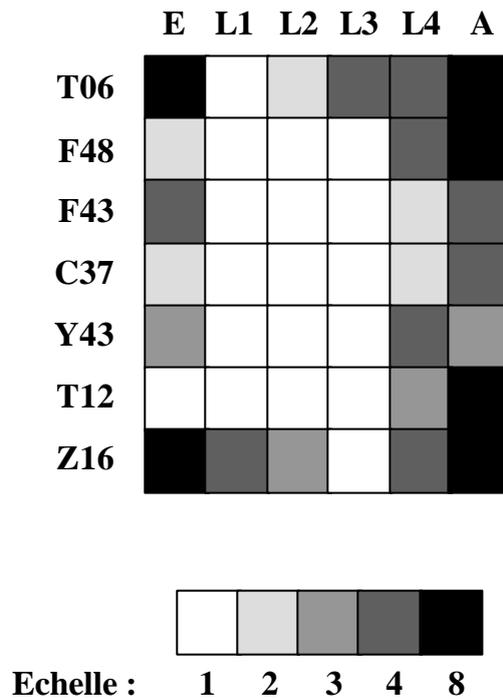


Figure 15 : Expression des gènes des cyclines de *Caenorhabditis elegans*. L'expression de 17 871 gènes de *Caenorhabditis elegans* a été analysée grâce à la technique des puces à ADN, qui permet de quantifier spécifiquement l'ARN messager synthétisé à partir de chacun de ces gènes chez un échantillon adéquat d'animaux. Le traitement informatique des résultats obtenus conduit à une représentation schématique des données telle qu'illustrée ici pour quelques gènes seulement. Les six colonnes du graphe montrent le niveau d'expression de chacun des sept gènes de cyclines identifiés chez *Caenorhabditis elegans*, en fonction du stade de développement (E : embryon, L1-L4 : stades larvaires 1 à 4, A : jeune adulte). La valeur représentée correspond au niveau d'expression au stade indiqué divisé par le niveau d'expression au stade où il est le plus bas – pour lequel il prend donc la valeur 1. L'échelle des valeurs est précisée en dessous du graphe.