

CONCOURS G2E

**BIOLOGIE**

Durée : 3 heures

---

Les calculatrices programmables et alphanumériques sont interdites. Les téléphones portables, "smartphones" et tout autre objet connecté doivent être éteints au cours de l'épreuve et ne doivent en aucun cas être utilisés même à titre de montre.

L'usage de tout ouvrage de référence et de tout document est strictement interdit.

Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il en fait mention dans sa copie et poursuit sa composition. Dans ce cas, il indique clairement la raison des initiatives qu'il est amené à prendre.

Les candidats doivent respecter les notations de l'énoncé et préciser, dans chaque cas, la numérotation de la question posée.

**La rédaction se fera uniquement à l'encre bleue ou noire et l'utilisation du blanc correcteur et effaceur est interdite. Les découpages et collages sur la copie sont interdits.**

Une grande attention sera apportée à la clarté de la rédaction et à la présentation des différents schémas si nécessaire.

---

Il n'est pas nécessaire de rédiger une introduction et une conclusion.

Attention : le sujet de biologie est composé de deux parties indépendantes dont la numérotation est continue afin d'éviter toute confusion lors de vos réponses. Le jury vous conseille de les composer en 1h30 chacune afin de répondre à toutes les questions.

Remarque importante : les questions suivent une problématique progressive, le jury vous conseille donc de les aborder dans l'ordre du sujet.

**Bibliographie**

Biller S. J. et al. (2014) *Science* 343, no. 6167 : 183-186.

Cai F. et al. (2015) *Life*, 5, 1141-1171

Hennon G. et al. (2018) *The ISME Journal* 12, 520–531

Ito H. et Tanaka A. (2011) *PNAS* vol108, no. 44 18014–18019

Morris J.J. et al. (2011), *PLoS ONE* 6(2) : e16805.

Image du site <https://microbewiki.kenyon.edu/>, réalisée par J. Waterbury, WHOI

Peng, K. et al. (2018) *Neurotoxicity Research* publié en ligne 21 septembre 2018 ;

Narendra D. (2009); *Autophagy* 5:5, 706-708; Narendra D. (2008) *J. Cell Biol.* 183:5, 795–803 ;

Chen Y (2013) *Science* 340(6131):471–5.

# BIOLOGIE 1

## (Durée conseillée 1h30)

### PARKINSON ET MITOCHONDRIES

Dans la maladie de Parkinson, des neurones produisant de la dopamine sont détruits, ce qui provoque des mouvements rigides et des tremblements. Depuis dix ans, des chercheurs explorent la piste d'un dysfonctionnement des mitochondries comme cause possible de cette mort cellulaire.

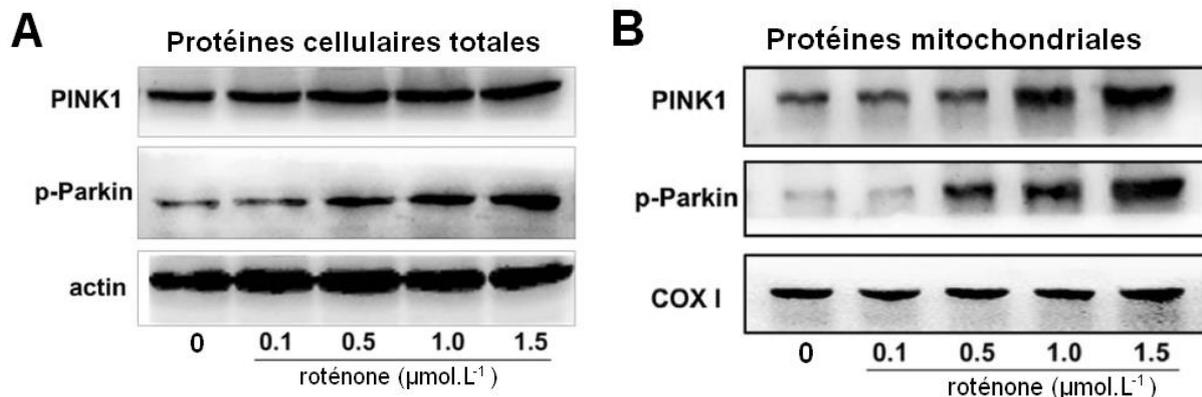
#### Partie 1 (4,5 points)

#### Mécanisme d'action de la roténone

La roténone est un insecticide, dont on sait depuis les années 2000, qu'il est susceptible de provoquer la maladie de Parkinson. Afin de préciser son mécanisme d'action, on étudie deux protéines, la Parkin et PINK1. La protéine Parkin est une protéine dont les mutations sont associées à certaines formes de maladie de Parkinson. PINK1 est une kinase.

#### 1.1. Effet de la roténone sur la Parkin et PINK1

Des neurones en culture sont exposés à des concentrations variées de roténone. Puis, on broie la cellule entière ou seulement des mitochondries, afin de faire migrer leurs protéines lors d'un *Western-blot*. Les protéines sont révélées grâce à des anticorps spécifiques.



**Document 1 :** *Western-blot* des protéines cellulaires totales (A) ou des protéines mitochondriales (B), provenant de neurones ayant subi un traitement préalable à la roténone selon les concentrations indiquées. La protéine PINK1, la Parkin phosphorylée (p-Parkin), l'actine et la cyclooxygénase (COX I) sont révélées à l'aide d'anticorps spécifiques.

**Question 1.a.** Expliquer le rôle de l'actine et de la cyclooxygénase (COX I) dans cette expérience.

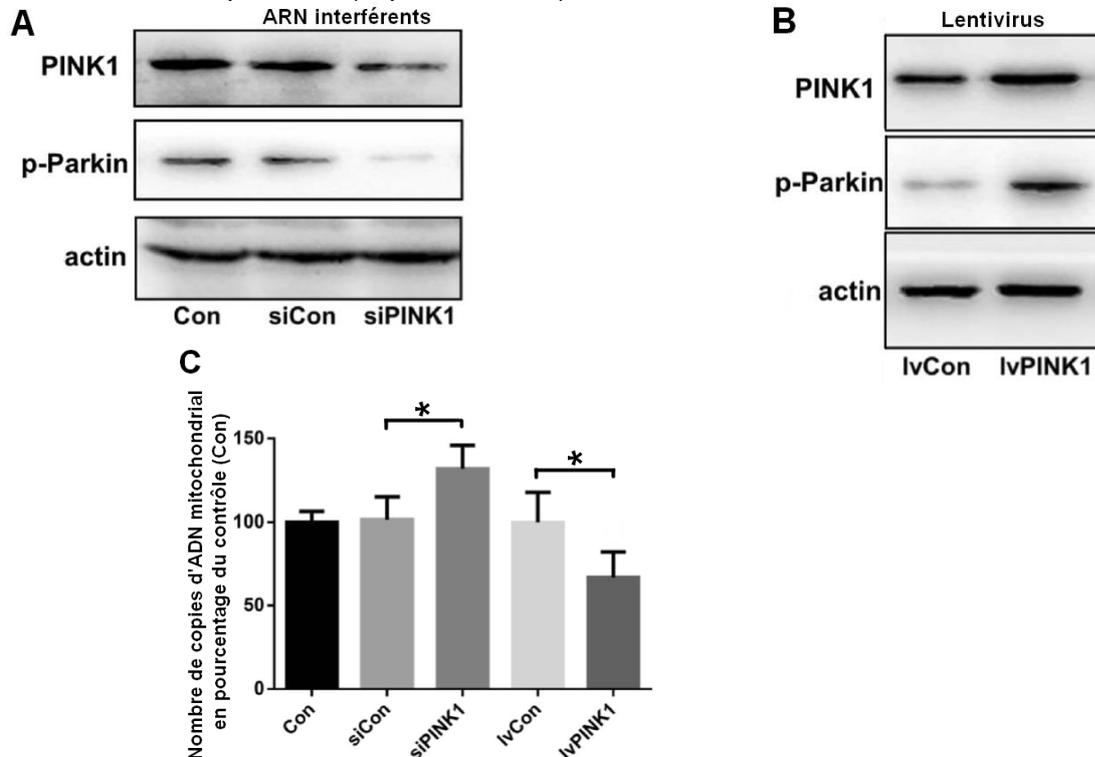
**Question 1.b.** Commenter les résultats obtenus avec des broyats de cellules ou de mitochondries.

**Question 1.c.** Quel est l'effet de la roténone sur les protéines étudiées ?

#### 1.2. Rôle de PINK1 dans la formation de nouvelles mitochondries

Dans une première expérience (2-A), la séquence de PINK1 est utilisée pour produire des petits ARN interférents (*siPINK1*). Des ARN de séquence aléatoire, de longueur et composition

identique à celle des ARN interférents sont aussi produits (*siCon*). Dans une seconde expérience (2-B), on utilise un virus de type lentivirus non modifié (*lvCon*) ou un lentivirus possédant la séquence codante de PINK1 placée juste après un promoteur viral (*lvPINK1*). Par *Western-blot* (expérience 2-B), on mesure la quantité des protéines PINK1, Parkin phosphorylée (p-Parkin), ainsi que de l'actine. Le nombre de copies d'ADN mitochondrial par cellule est évalué par PCR (expérience 2-C).



**Document 2 :** *Western-blot* des protéines PINK1, de la Parkin phosphorylée (p-Parkin), et de l'actine, à partir de cellules traitées ou non avec des ARN interférents (*si*) en (A) ou des lentivirus (*lv*) en (B) ; et mesure du nombre de copies d'ADN mitochondrial par cellule par PCR en (C). Le nombre de copies d'ADNmt est exprimé en pourcentage du témoin sans traitement (*Con*). Les astérisques indiquent des différences statistiquement significatives entre les deux groupes reliés par l'accolade.

**Question 2.a.** D'après vos connaissances, quel est l'effet attendu de l'ajout d'un ARN interférent dit *ARNsi* ?

Quel peut être l'effet de l'ajout d'un virus portant la séquence d'un gène d'intérêt après un promoteur viral ?

**Question 2.b.** Concernant PINK1 et la Parkin phosphorylée (*p-Parkin*), qu'apportent les expériences 2-A et 2-B par rapport à l'expérience précédente ?

**Question 2.c.** D'après le document 2-C, quel est le rôle de PINK1 dans la formation de nouvelles mitochondries ?

**Question 2.d.** En utilisant les documents 1 et 2, expliquer l'effet toxique de la roténone sur les neurones.

## Partie 2 (5,5 points)

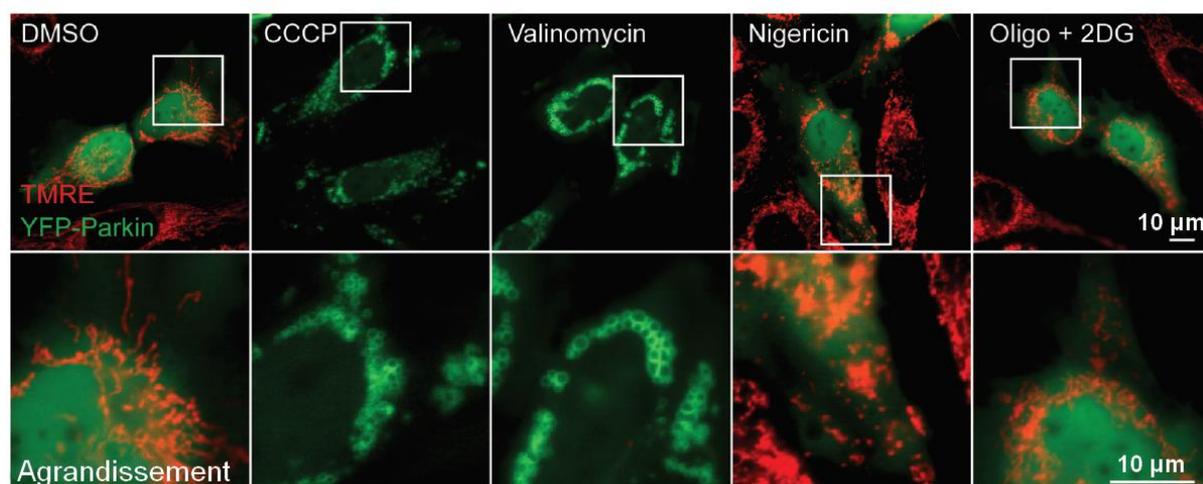
### Parkin, fonctionnement mitochondrial et phagosome

#### 2.1. Parkin et fonctionnement mitochondrial

Des cellules en culture sont perméabilisées et mises à incuber 1 heure en présence d'un anticorps anti-Parkin couplé à un fluorochrome vert (*YFP-Parkin*), et d'un colorant rouge chargé positivement qui s'accumule dans les mitochondries quand elles présentent une différence de potentiel transmembranaire (*colorant TMRE*).

Au préalable, les mitochondries ont été traitées avec soit :

- du DMSO, un solvant ne contenant pas d'agent actif,
- du CCCP, un agent qui rend la membrane perméable aux protons,
- de la valinomycine, un agent qui induit un transport de  $K^+$  en sens opposé au transport actif des protons,
- de la nigéricine, un agent qui modifie le pH de l'espace intermembranaire sans modifier la différence de potentiel transmembranaire, *via* un antiport  $H^+/K^+$ ,
- de l'oligomycine qui bloque le fonctionnement de l'ATP synthase, et du 2 désoxyglucose (2DG) qui bloque la glycolyse.



**Document 3.** Immunocytochimie révélant en vert la Parkin, avec en plus une coloration par un agent rouge qui s'accumule dans les mitochondries quand elles possèdent une différence de potentiel transmembranaire (*TMRE*). Les cellules ont au préalable subi un des traitements présentés plus haut. Les photos de chaque ligne sont toutes prises à la même échelle. La ligne du bas montre des agrandissements de la zone encadrée en blanc sur la photo du haut correspondante.

**Question 3.a.** À l'aide d'un schéma, expliquer les modes d'action des inhibiteurs mitochondriaux utilisés et leurs effets.

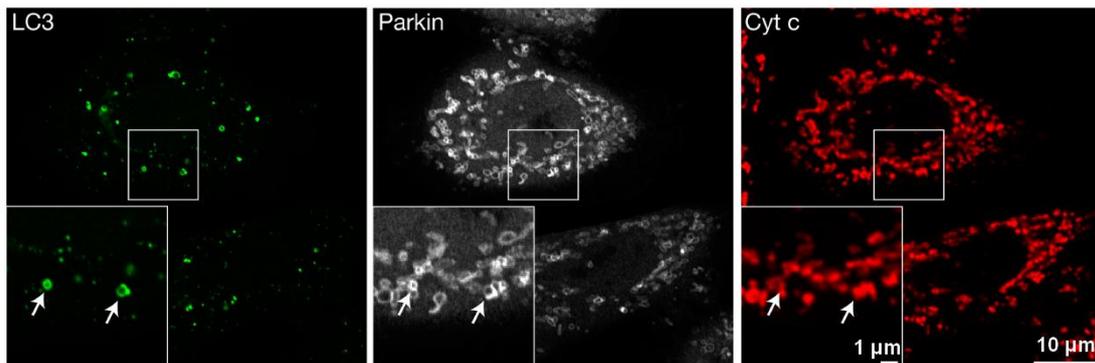
**Question 3.b.** Expliquez la répartition des fluorescences qui sont observées sur le document 3.

## 2.2. Parkin et phagosome

Après 48h de traitement, les cellules traitées au CCCP et à la valinomycine présentent un nombre réduit de mitochondries, contrairement aux autres cellules dont le nombre de mitochondries reste inchangé.

Pour comprendre ce phénomène, après 1h d'incubation en présence de CCCP, on marque simultanément avec des anticorps une protéine de phagosome nommée LC3, la protéine Parkin, et le cytochrome c.

Le phagosome est un organite qui permet de détruire d'autres organites. Dans une cellule saine, le phagosome détruit des organites vieillissants.



**Document 4.** Immunocytochimie de neurones préalablement incubés 1h en présence de CCCP, révélant sur les mêmes cellules la protéine LC3 en vert (à gauche), la protéine Parkin (au centre) et le cytochrome c (à droite). Chaque anticorps est révélé en excitant le fluorochrome auquel il est couplé à l'aide d'une longueur d'onde spécifique. Les trois photos, ainsi que leurs agrandissements sont prises sans modifier le champ d'observation lors de la révélation des 3 anticorps.

**Question 4.** Après avoir expliqué l'utilité du marquage du cytochrome c, interpréter cette expérience.

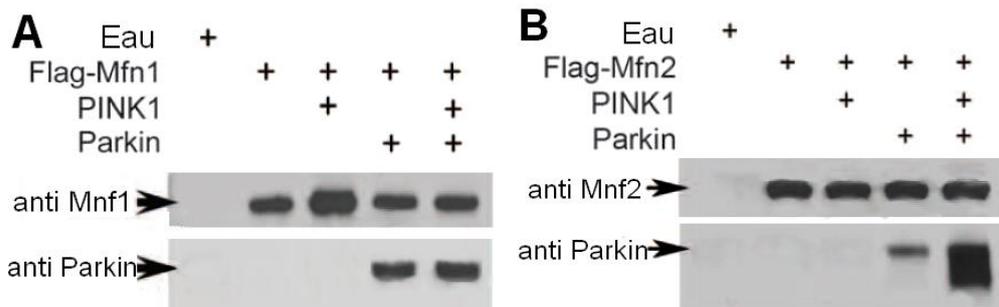
## 2.3. Mitofusines, Parkin et PINK1

Les mitofusines sont des protéines présentes sur la membrane externe des mitochondries. Il existe deux isoformes de cette protéine, notées Mfn1 et Mfn2 (Mfn pour mitofusine). Chez les souris n'exprimant aucune de ces deux isoformes, les mitochondries sont dysfonctionnelles et prolifèrent. On cherche ici à comprendre leur rôle exact.

Des protéines chimères sont produites en plaçant après le gène d'une des mitofusines (Mfn 1 ou 2) une petite portion de la séquence de protéine bactérienne FLAG. Ces séquences sont introduites dans des cellules, ainsi que des séquences permettant de produire en grande quantité la protéine Parkin et/ou la protéine PINK1.

Des broyats de cellules produisant ces protéines sont mis à précipiter avec un anticorps anti-FLAG. Les protéines ayant précipité migrent dans un gel dénaturant lors d'une électrophorèse puis sont révélées successivement avec un anticorps anti-mitofusine 1 ou 2, ou anti-Parkin.

**Question 5.a.** Schématiser le principe de cette expérience, en expliquant ce que signifie respectivement la présence et l'absence de bande lors de la révélation par l'anticorps anti-Parkin.



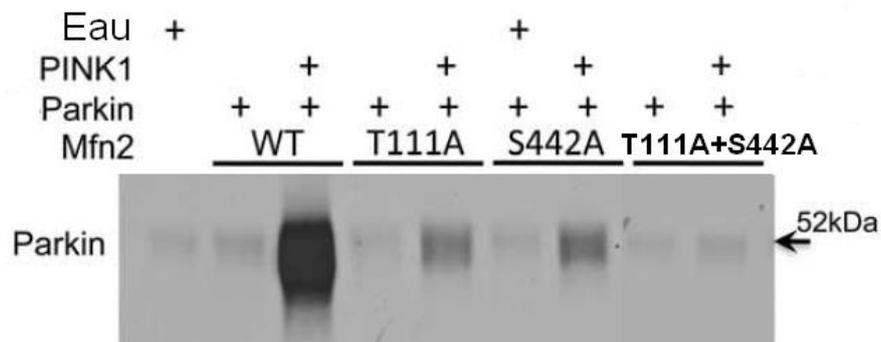
**Document 5.** *Western-Blot* des protéines provenant d'extraits de cellules transgéniques produisant certaines protéines (+), ayant précipité au contact d'un anticorps anti-FLAG, suivi d'une révélation à l'aide d'anticorps dirigés contre les protéines Mnf (1 ou 2) et Parkin.

**Question 5.b.** Interpréter les résultats obtenus, et préciser le rôle de PINK1 mis en évidence dans cette expérience.

## 2.4. Mitofusine 2 et Parkin

Mitofusine et Parkin sont impliquées dans le suicide cellulaire par destruction des mitochondries via les phagosomes. Nous nous intéressons désormais aux différentes protéines pouvant interagir avec Parkin.

Plusieurs protéines sont mises à interagir avec la Parkin : la Mitofusine 2 sauvage ou mutée, ainsi que la kinase PINK1. La protéine Mitofusine 2 est soit normale (WT), soit mutée sur la thréonine 111 (T111A), soit sur la sérine 442 (S442A), soit sur ces deux acides aminés (T111A+S442A). Ces acides aminés, qui possèdent une chaîne latérale à groupement alcool, et peuvent ainsi être phosphorylés par PINK1, sont remplacés par de l'alanine (A) qui n'en possède pas.



**Document 6.** Détection de l'interaction de la Parkin avec la Mitofusine 2, normale (WT) ou mutée sur un seul acide aminé ou deux. La présence d'une bande noire montre qu'il y a eu interaction entre la Parkin et la mitofusine 2.

**Question 6.** Interpréter les résultats obtenus, et conclure sur le mécanisme de d'interaction entre la Parkin et la mitofusine 2.

**Question 7.** À l'aide des informations collectées dans l'ensemble du sujet **BIOLOGIE 1**, proposer un mécanisme expliquant la toxicité de la roténone, et donc possiblement la maladie de Parkinson.

## BIOLOGIE 2 (Durée conseillée 1h30)

### AUTOUR DE *PROCHLOROCOCCUS*

Les Prochlorophytes sont un groupe de cyanobactéries marines. On trouve jusqu'à 100 000 cellules de *Prochlorococcus* par millilitre d'eau de mer, ce qui en fait l'organisme photosynthétique le plus répandu en termes d'individus. Il représente 5% de la photosynthèse terrestre totale.

### Partie 3 (3 points) Photosynthèse chez les cyanobactéries

#### 3.1 Observation microscopique de *Prochlorococcus*



**Document 7.** Une cellule de *Prochlorococcus* observée au microscope électronique à transmission (MET).

**Question 8.a.** Réaliser un schéma d'interprétation légendé de la cellule de *Prochlorococcus* visible sur le document 7.

**Question 8.b.** Rappeler en 5 lignes maximum les points communs et les différences entre la microscopie électronique à transmission et la microscopie électronique à balayage.

### 3.2. Formation du centre réactionnel du photosystème II chez *Prochlorococcus*

Chez la plupart des organismes photosynthétiques, la chlorophylle a du centre réactionnel des photosystèmes II se lie à des protéines qui la stabilisent, notamment des protéines D1.

Afin d'étudier le fonctionnement des photosystèmes des cyanobactéries, on utilise deux organismes : *Prochlorococcus* et *Synechocystis*.

Les cyanobactéries *Prochlorococcus* diffèrent des autres Prochlorophytes car elles possèdent de la divinyl-chlorophylle a et de l' $\alpha$ -carotène au lieu de la chlorophylle a et du  $\beta$ -carotène. D'autres cyanobactéries utilisent la monovinyl-chlorophylle a (la différence entre la monovinyl et la divinyl-chlorophylle a est la présence d'une double liaison entre les carbones attachés au noyau pyrrole II). Le centre réactionnel du photosystème II est composé entre autres de chlorophylle a et de protéines-pigments D1 et D2.

Position (numéro de l'acide aminé dans la chaîne)	<i>Prochlorococcus</i>	<i>Synechocystis</i>
205	Méthionine	Valine
282	Cystéine	Glycine

Tableau 1. Comparaison de la protéine D1 de *Prochlorococcus* et de *Synechocystis*.

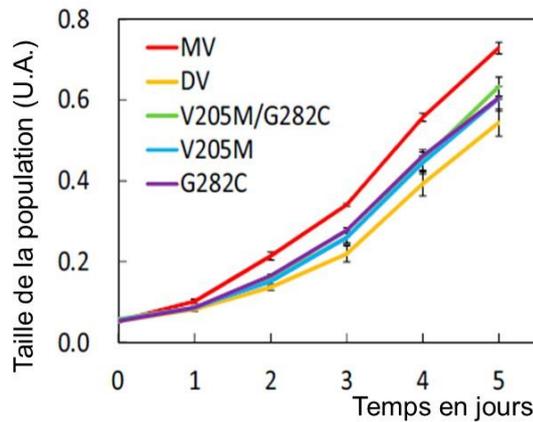
**Question 9.a.** Nommer la technique consistant à remplacer sélectivement un acide aminé par un autre au sein d'une protéine, et expliquer son intérêt.

**Question 9.b.** Schématiser une cystéine et indiquer quel peut être son rôle au sein d'une protéine.

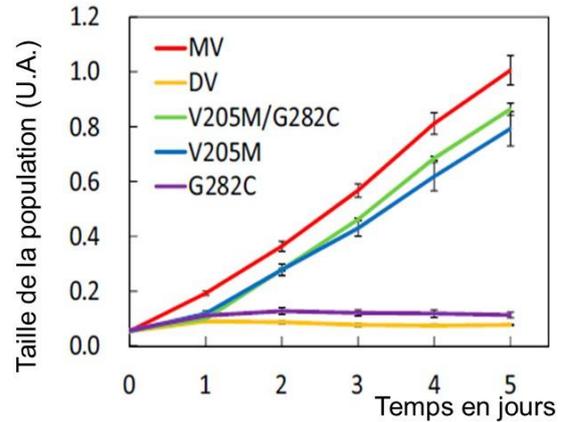
On utilise différentes souches de *Synechocystis* :

- une souche sauvage notée MV, produisant de la monovinyl-chlorophylle a et la protéine D1S (courbes rouges) ;
- une souche mutée notée DV, produisant de la divinyl-chlorophylle a et la protéine D1S (courbes jaunes) ;
- une souche mutée notée V205M, produisant de la divinyl-chlorophylle a et une protéine D1S mutée où la valine en position 205 est remplacée par la méthionine (courbes bleues) ;
- une souche mutée notée G282C, produisant de la divinyl-chlorophylle a et une protéine D1S mutée où la glycine en position 282 est remplacée par la cystéine (courbes violettes) ;
- une souche mutée notée V205M/G282C, produisant de la divinyl-chlorophylle a et une protéine D1S mutée où la glycine en position 282 est remplacée par la cystéine et où la valine en position 205 est remplacée par la méthionine (courbes vertes).

La croissance de population de ces différentes souches de *Synechocystis* exposées à un flux lumineux d'intensité faible (30 unités arbitraires, noté 30 UA) ou élevée (250 unités arbitraires, noté 250 UA) est présentée en document 8.



**Document 8-A.** Intensité lumineuse faible  
30 UA



**Document 8-B.** Intensité lumineuse élevée,  
250 UA

**Document 8.** Croissance des différentes souches de *Synechocystis* selon l'intensité lumineuse (3 expériences indépendantes par condition). Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

**Question 9.c.** À l'aide du document 8-B, identifier le(s) acide(s) aminé(s) de la protéine D1 impliqués dans la stabilisation de la chlorophylle a.

**Question 9.d.** Expliquer la différence observée entre les résultats des documents 8-A et 8-B.

Afin de mieux comprendre le métabolisme de *Prochlorococcus*, on étudie les conséquences de son association avec un autre partenaire bactérien.

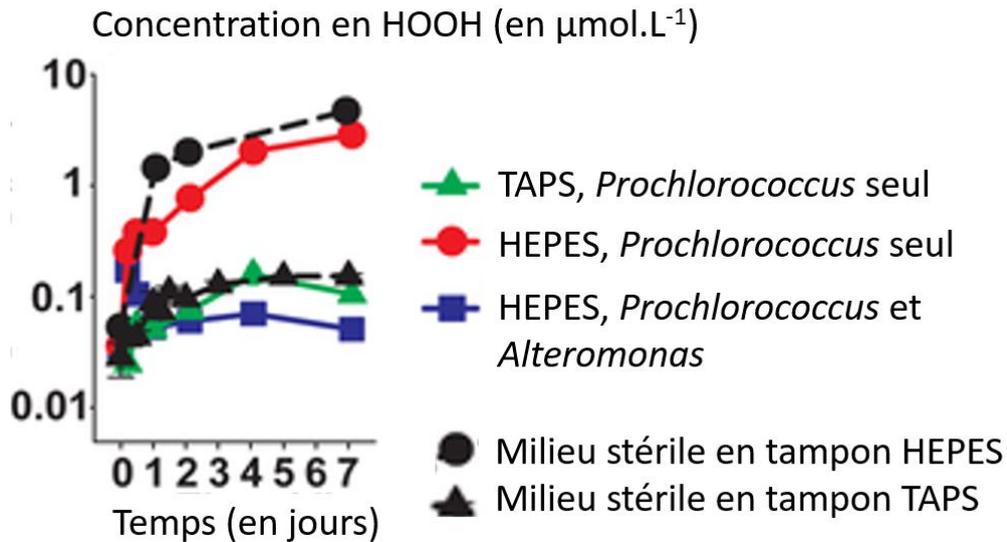
**Partie 4 (4 points)**  
**Association de *Prochlorococcus* et d'*Alteromonas***

Des prélèvements d'eau de mer révèlent que *Prochlorococcus* est très souvent trouvé en association avec des bactéries chimiohétérotrophes comme *Alteromonas*. Pour tenter de connaître les liens éventuels entre ces deux genres bactériens, on réalise diverses cultures (Document 9).

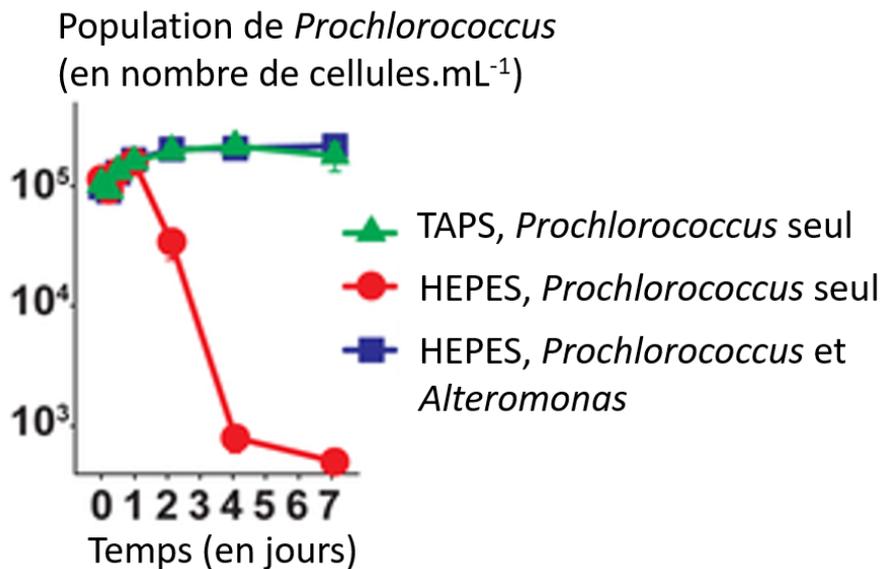
Dans ces cultures, on suit l'accumulation de peroxyde d'hydrogène HOOH (aussi noté H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le nombre de cellules de *Prochlorococcus* :

- une culture de *Prochlorococcus* seul cultivé dans un tampon HEPES permettant l'accumulation de HOOH : cercles rouges ;
- dans une coculture de *Prochlorococcus* et d'*Alteromonas* cultivés dans un tampon HEPES permettant l'accumulation de HOOH : carrés bleus ;
- dans une culture de *Prochlorococcus* seul cultivé dans un tampon TAPS ne permettant pas l'accumulation de HOOH : triangles verts.

L'accumulation de HOOH est également suivie dans un milieu stérile en tampon HEPES (cercles noirs, ligne pointillée) et dans un milieu stérile en tampon TAPS (triangles noirs, ligne pointillée).

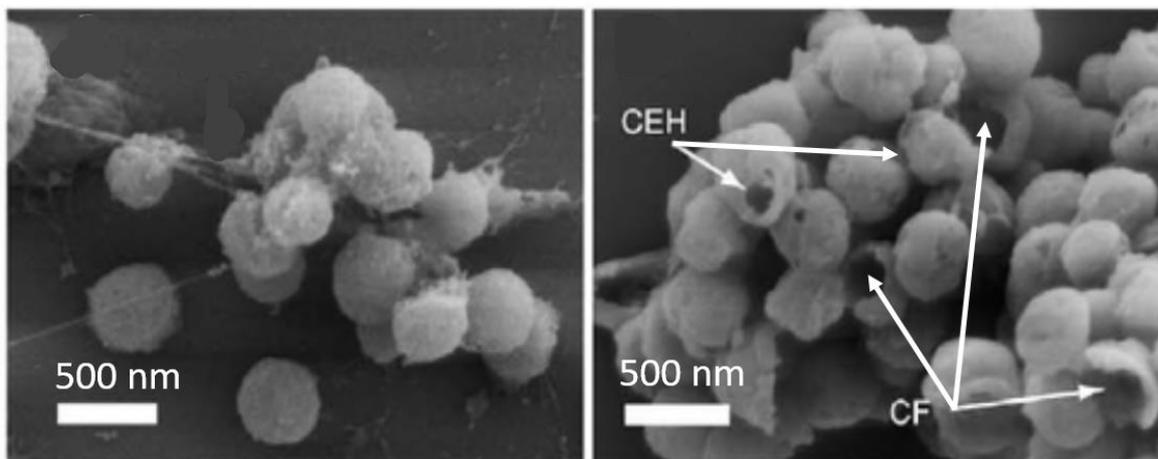


**Document 9-A.** Evolution de la teneur en HOOH en fonction du temps



**Document 9-B.** Evolution de la population de *Prochlorococcus* en fonction du temps

Des cellules de *Prochlorococcus* sont cultivées pendant 24 heures dans un milieu pauvre en HOOH ( $0,05 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) et dans un milieu riche en HOOH ( $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ). À l'issue de ces 24 heures, des échantillons sont prélevés et observés au microscope électronique à balayage (MEB). Les images présentées en document 9-C sont représentatives de toutes les observations.



CEH : trou dans la paroi d'une cellule, CF : fragment de cellule.

**Document 9-C.** Observations de cellules cultivées en milieu pauvre ou riche en HOOH.

**Document 9.** Diverses cultures de *Prochlorococcus*.

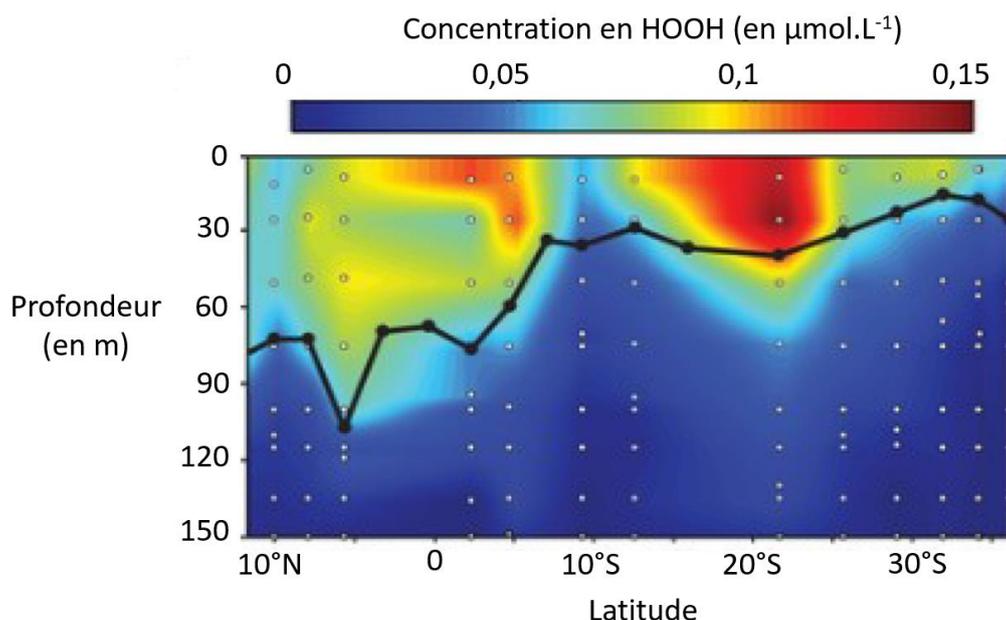
**Question 10.a.** Analyser le document 9-A, et préciser la ou les hypothèse(s) de l'origine du HOOH trouvé dans la culture en présence du tampon HEPES.

**Question 10.b.** Analyser l'ensemble des résultats des documents 9-A, 9-B et 9-C et expliquer pourquoi *Prochlorococcus* est très souvent trouvé en association avec *Alteromonas*.

**Question 10.c.** Proposer une critique à la présentation des résultats des documents 9-A et 9-B.

La teneur en HOOH dans les eaux océaniques de l'océan Pacifique est mesurée à différentes profondeurs le long d'un transect situé entre Hawaii et l'Australie (document 10).

Les points blancs représentent les zones d'échantillonnage. Le trait noir représente la profondeur de la thermocline.

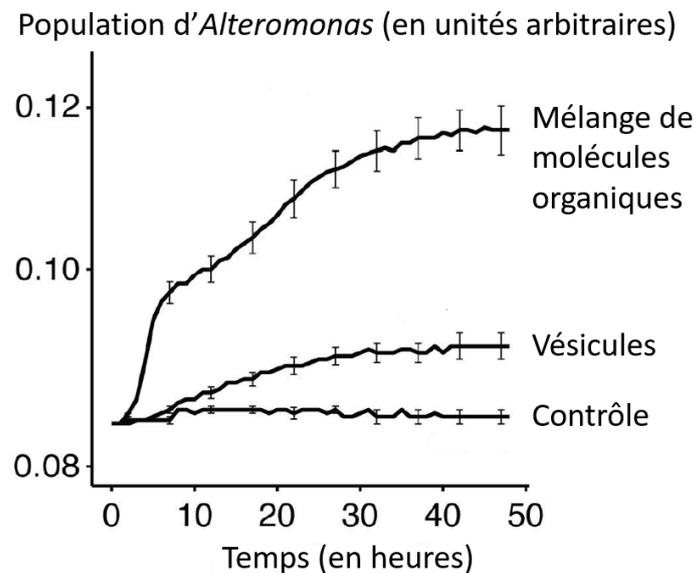


**Document 10.** Mesures de teneur en HOOH dans l'Océan Pacifique entre Hawaii et l'Australie.

**Question 11.** Analyser le document 10, et préciser si ce document confirme ou infirme la ou les hypothèse(s) de l'origine du HOOH trouvé dans l'eau de mer.

Par ailleurs, des observations de cellules de *Prochlorococcus* montrent qu'elles libèrent fréquemment de petites vésicules qui bourgeonnent à partir de leur cytosol. Afin de voir si ces vésicules ont un lien avec l'association de *Prochlorococcus* et d'*Alteromonas*, des cultures d'*Alteromonas* sont réalisées :

- soit en présence d'un milieu marin minimum et de vésicules libérées par *Prochlorococcus* (noté « Vésicules » sur le document 11) ;
- soit en présence d'un milieu marin minimum et d'un mélange de molécules organiques (noté « Mélange de molécules organiques » sur le document 11) ;
- soit en présence d'un milieu marin minimum seul (noté « Contrôle » sur le document 11).



**Document 11.** Devenir des vésicules libérées par *Prochlorococcus* (3 expériences indépendantes par condition).

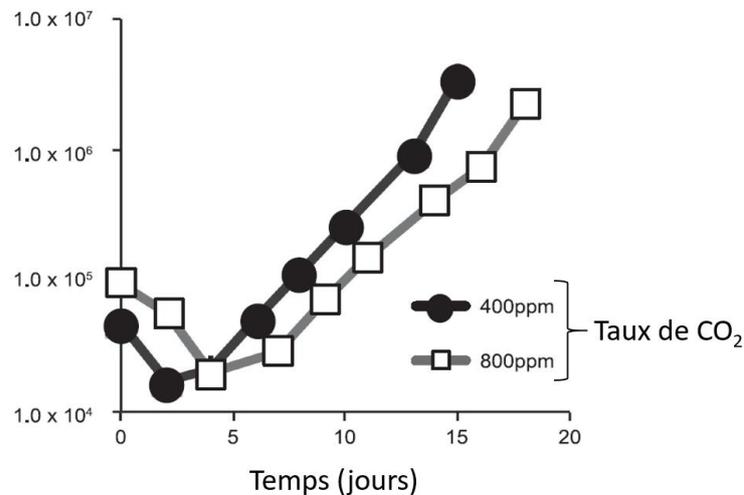
Les barres d'erreur représentent l'écart standard à la moyenne.

**Question 12.a.** Analyser le document 11 et proposer un rôle possible pour les vésicules libérées par *Prochlorococcus*.

**Question 12.b.** À l'aide des informations apportées par les documents 9, 10 et 11, qualifier la relation interspécifique entre *Prochlorococcus* et *Alteromonas*.

On modélise l'impact d'une augmentation du taux de CO<sub>2</sub> atmosphérique sur des populations de *Prochlorococcus* en coculture avec *Alteromonas* (document 12).

Nombre de cellules de *Prochlorococcus* par mL



**Document 12-A.** Des cocultures de *Prochlorococcus* et d'*Alteromonas* sont réalisées en milieu enrichi en CO<sub>2</sub> (eau de mer en équilibre avec une atmosphère à 800 ppm de CO<sub>2</sub>). La croissance de *Prochlorococcus* y est quantifiée et comparée à des cocultures témoins. Ces témoins sont réalisés dans une eau de mer en équilibre avec une atmosphère à 400 ppm de CO<sub>2</sub>, soit la valeur actuelle du taux de CO<sub>2</sub> atmosphérique. Les valeurs des deux courbes sont significativement différentes au-delà de 10 jours.

Gène ou opéron d' <i>Alteromonas</i>	Fonction cellulaire	Taux de transcription en atmosphère enrichie en CO <sub>2</sub> par rapport au taux de transcription en atmosphère actuelle
Opéron de synthèse de l'histidine	Synthèse d'un acide aminé	Diminué
Opéron de synthèse du glutamate	Synthèse d'un acide aminé	Diminué
Opéron de synthèse du tryptophane	Synthèse d'un acide aminé	Diminué
Gène de la catalase	Catalyse la réaction $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Diminué
Superoxyde dismutase	Catalyse la réaction $2 \text{O}_2^{\cdot-} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$	Augmenté

**Document 12-B.** Taux de transcription de certains gènes ou opérons d'*Alteromonas* est quantifié dans les deux types de culture (témoin à 400 ppm de CO<sub>2</sub> et milieu enrichi à 800 ppm de CO<sub>2</sub>).

**Document 12.** Impacts de l'augmentation du taux de CO<sub>2</sub> atmosphérique sur les populations de *Prochlorococcus* et d'*Alteromonas*.

**Question 13.a.** Définir un opéron et donner un exemple précis d'opéron (5 lignes maximum).

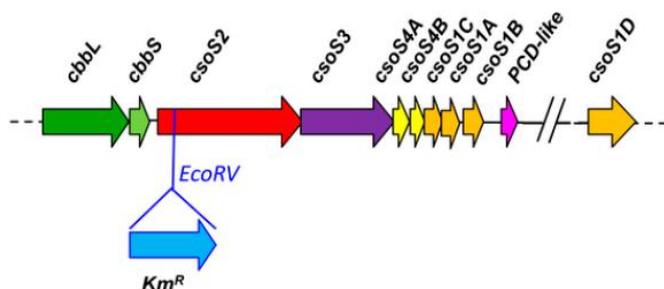
**Question 13.b.** À l'aide des documents 12-A et 12-B, comparer la croissance de *Prochlorococcus* en milieu témoin et en milieu enrichi en CO<sub>2</sub> et proposer des hypothèses explicatives.

## Partie 5 (3 points) Formation du carboxysome

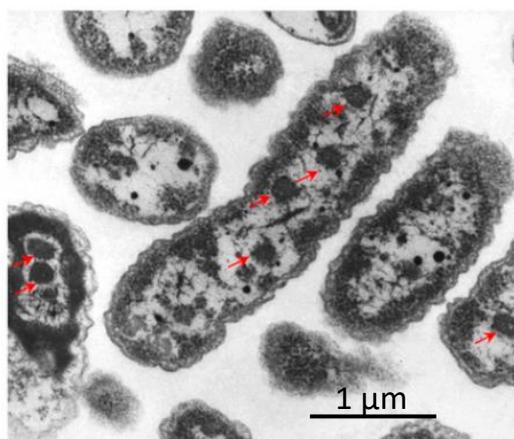
On étudie une protéine nommée **CsoS2** impliquée dans la formation du carboxysome de certaines bactéries. Comme le génome de *Prochlorococcus* est très variable, on utilise comme modèle une autre bactérie possédant un carboxysome similaire et au génome moins variable : *Halothiobacillus neapolitanus* (notée Hnea).

On réalise l'insertion, dans le gène codant la protéine CsoS2, d'une séquence codant la résistance à la kanamycine (un antibiotique) notée  $Km^R$ .

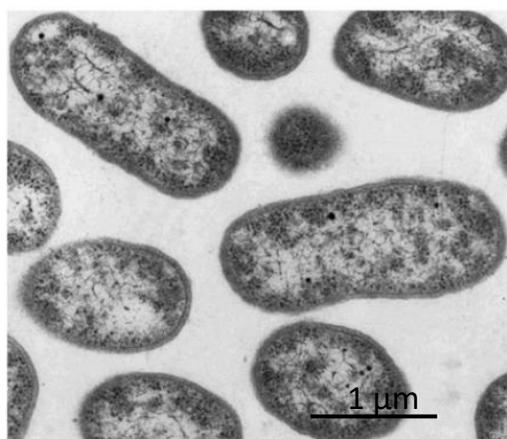
*Halothiobacillus neapolitanus*



**Document 13-A.** La portion de génome comprenant le gène *csoS2* est présentée. L'ouverture de l'ADN et l'insertion de la séquence  $Km^R$  sont réalisées grâce à une enzyme de restriction *EcoRV*.



*Hnea wildtype*



*Hnea csoS2::Km<sup>R</sup> mutant*

**Document 13-B.** Des électronographies de bactéries Hnea sauvages (*Hnea wildtype*). mutantes (*Hnea csoS2::Km<sup>R</sup> mutant*). Les flèches rouges indiquent les carboxysomes.

**Document 13.** Implication de la protéine CsoS2 dans la formation du carboxysome.

**Question 14.a.** Sachant que le carboxysome a la même fonction que le pyrénioïde des algues, donner sa fonction (en 5 lignes maximum).

**Question 14.b.** Quelle est la conséquence de l'insertion de  $Km^R$  dans le gène *csoS2* ? Quel est l'intérêt d'utiliser une séquence de résistance aux antibiotiques ?

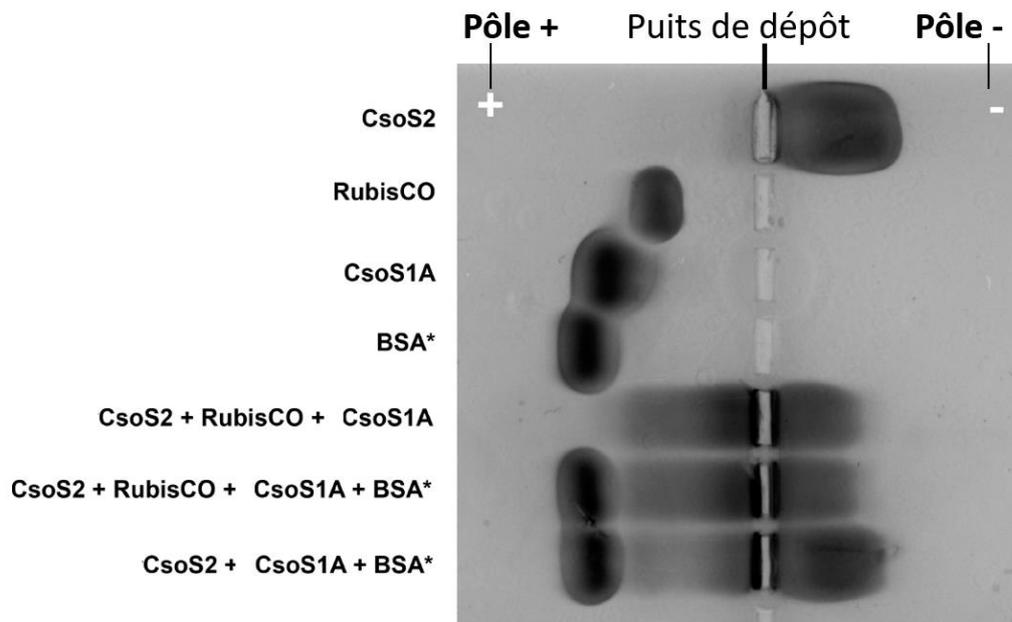
**Question 14.c.** Analyser et interpréter le document 13-B.

Dans un second temps, on cherche à déterminer l'action intracellulaire de CsoS2.

Des électrophorèses en conditions natives sont réalisées (document 14).

On dépose dans les puits :

- la protéine CsoS2 ;
- la protéine RubisCO ;
- la protéine CsoS1A (une autre protéine identifiée dans le carboxysome) ;
- la Sérum Albumine Bovine (BSA\*), une protéine présente uniquement chez les Bovins et n'ayant donc aucune relation avec le carboxysome ;
- un mélange de protéines CsoS2, RubisCO et CsoS1A ;
- un mélange de protéines CsoS2, RubisCO et CsoS1A et BSA\*
- un mélange de protéines CsoS2, CsoS1A et BSA\*.



**Document 14.** Relations entre CsoS2 et d'autres molécules du carboxysome.

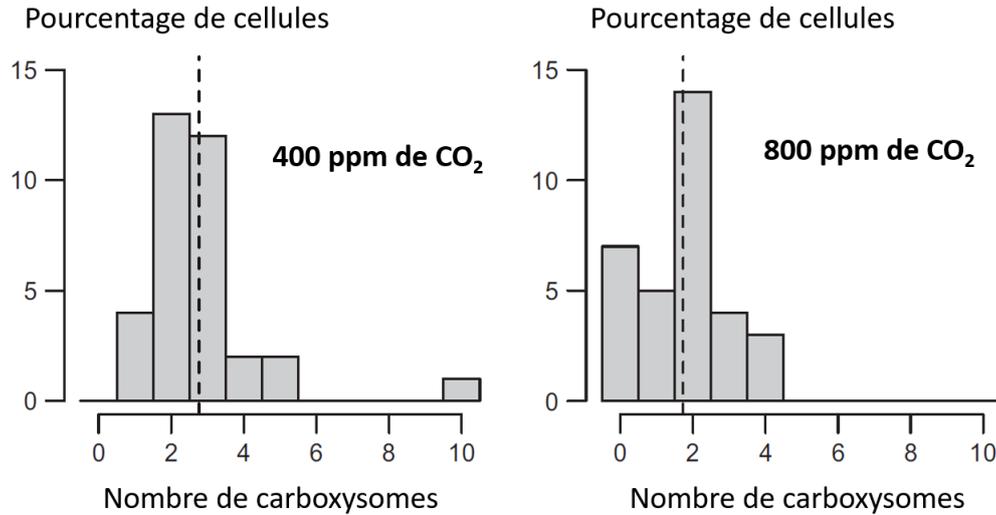
**Question 15.a.** Quelle est la charge globale de la protéine CsoS2 au pH du tampon de migration ? Justifier votre réponse.

**Question 15.b.** Analyser et interpréter l'ensemble des résultats de l'électrophorèse, puis conclure quant au rôle de la protéine CsoS2 dans l'assemblage du carboxysome.

On s'intéresse maintenant au carboxysome de *Prochlorococcus*, pour cela on réalise deux cultures de cette cyanobactérie.

La première culture de *Prochlorococcus* est placée dans un milieu au contact d'une atmosphère à 400 ppm de CO<sub>2</sub> (atmosphère actuelle) et la seconde dans un milieu au contact d'une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> (800 ppm). Les cultures sont réalisées sur un temps long : l'équivalent d'environ 5 générations cellulaires.

À l'issue de cette période de culture, on dénombre les carboxysomes présents au sein des cellules dans chacun des milieux de culture. Le trait pointillé représente la moyenne du nombre de carboxysomes.



**Document 15.** Influence d'une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> sur la présence de carboxysomes chez *Prochlorococcus*.

**Question 16.a.** Comment évolue le nombre de carboxysomes dans un milieu enrichi en CO<sub>2</sub> ? Proposer au moins deux hypothèses explicatives.

**Question 16.b.** Utiliser les informations collectées dans les parties 4 et 5 pour conclure quant aux effets d'une augmentation du taux atmosphérique de CO<sub>2</sub> sur la physiologie et le milieu de vie de *Prochlorococcus*.

**Fin du sujet**