

**UE : EXPRESSION DES GENES ET BIOSYNTHESE DES PROTEINES**

Ecrit **sujet** de M. H. Becker

Durée **1 heure**

Enseignant référant : **Pr. H. Becker**

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.*

N° d'anonymat :

I) Des chercheurs ont séquencé le génome de *Bos taurus* (la vache) qui code pour 21 espèces d'ARNt isoaccepteurs. Deux des gènes d'ARNt, dont les séquences sont présentées ci-dessous, attirent tout particulièrement leur attention car ces ARNt (ARNt<sup>X1</sup> et ARNt<sup>X2</sup>) se ressemblent beaucoup puisque l'ARNt<sup>X2</sup> ne diffère de l'ARNt<sup>X1</sup> que par la présence d'une mutation et des 2 nucléotides supplémentaires (en blanc sur fond noir). Tous deux ont de plus un bras de l'anticodon d'une longueur inhabituelle par rapport à la structure canonique (Figure ci-dessous). Ils purifient les ARNt<sup>X1</sup> et ARNt<sup>X2</sup> à partir d'un extrait d'ARNt total de *Bos taurus*.

ARNt<sup>X1</sup> :

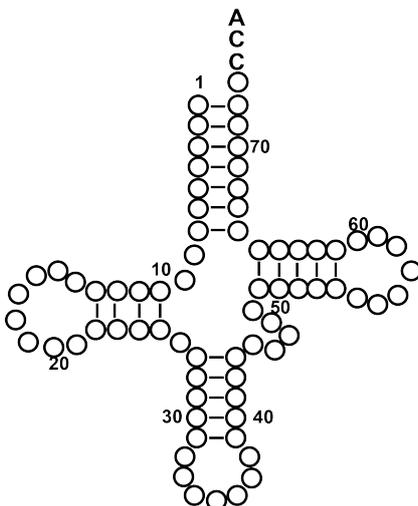
5' **GAGAGAGAUCAUAGAAUGGUAUAUGAUGUUGGCUUGAAACCAAUAGUCAGGGGGUUCGAU**  
UCCUCCUUCUACCA 3'

ARNt<sup>X2</sup>

5' **GAGAGAGAUCAUAGAAUGGUAUAUGAUGUUGGCUUC** **AAACCAAUAGUCAGGGGGUUCGA**  
UCCUCCUUCUACCA 3'

Q1) Sur la base de la séquence de l'ARNt<sup>X1</sup> ci-dessus et de la structure secondaire consensus des ARNt, dessinez la structure en feuille de trèfle de l'ARNt<sup>X1</sup> sachant que cet ARNt possède une boucle du D composée de 8 nucléotides et 4 nucléotides dans la boucle variable. Vous indiquerez sur la structure de l'ARNt<sup>X1</sup> les mutations/insertions qui sont présentes dans l'ARNt<sup>X2</sup> (9 points).

Q2) Quel(s) est (sont) le(s) codon(s) que les ARNt<sup>X1</sup> et ARNt<sup>X2</sup> sont capables de décoder, un fois qu'il sont aminoacylés. Dessinez l'(les) interaction(s) codon-anticodon (1 point).

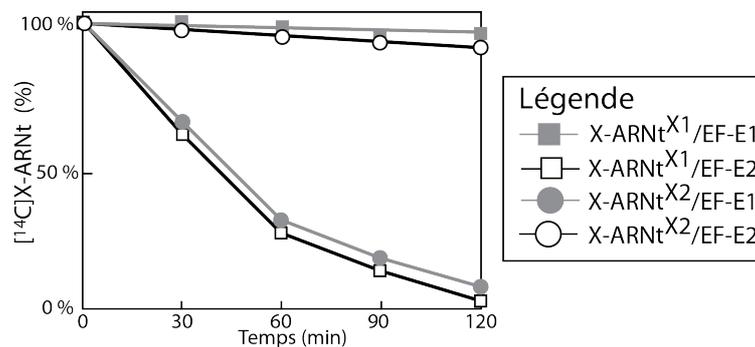


		Deuxième lettre				
		U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U	
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C	
	Leu	Ser	Stop	Stop	A	
	Leu	Ser	Stop	Trp	G	
C	Leu	Pro	His	Arg	U	
	Leu	Pro	His	Arg	C	
	Leu	Pro	Gln	Arg	A	
	Leu	Pro	Gln	Arg	G	
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U	
	Ile	Thr	Asn	Ser	C	
	Ile	Thr	Lys	Arg	A	
	Met	Thr	Lys	Arg	G	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U	
	Val	Ala	Asp	Gly	C	
	Val	Ala	Glu	Gly	A	
	Val	Ala	Glu	Gly	G	

Les chercheurs ont également repéré dans le génome de *Bos taurus* 2 gènes (*efe1* et *efe2*) codant pour des protéines ayant une forte homologie avec le facteur d'élongation EF-Tu procaryotique. Ils surproduisent et purifient les 2 protéines correspondantes EF-E1 et EF-E2 et les utilisent dans l'expérience suivante :

1) Ils aminoacylent durant 30 min les ARNt<sup>X1</sup> et ARNt<sup>X2</sup> avec l'acide aminé X radiomarqué au [<sup>14</sup>C] en présence d'un extrait brut de *B. taurus*. Ils extraient les aminoacyl-ARNt [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X1</sup> et [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X2</sup> et les incubent en présence d'EF-E1 ou d'EF-E2 dans un tampon Tris-HCl pH 8,8. Des aliquotes sont prélevées à différents intervalles de temps, déposées sur papier whatman 3MM. Les papiers sont plongés dans une solution d'acide trichloroacétique durant 5 min puis séchés et la radioactivité acidoprécipitée est comptée grâce à un compteur à scintillation. Les résultats de cette expérience sont présentés dans la **Figure 1**.

Q3) D'après la **Figure 1** ci-dessous, que pouvez-vous déduire des propriétés de reconnaissance d'EF-E1 et d'EF-E2 ; justifiez votre réponse (4 points).



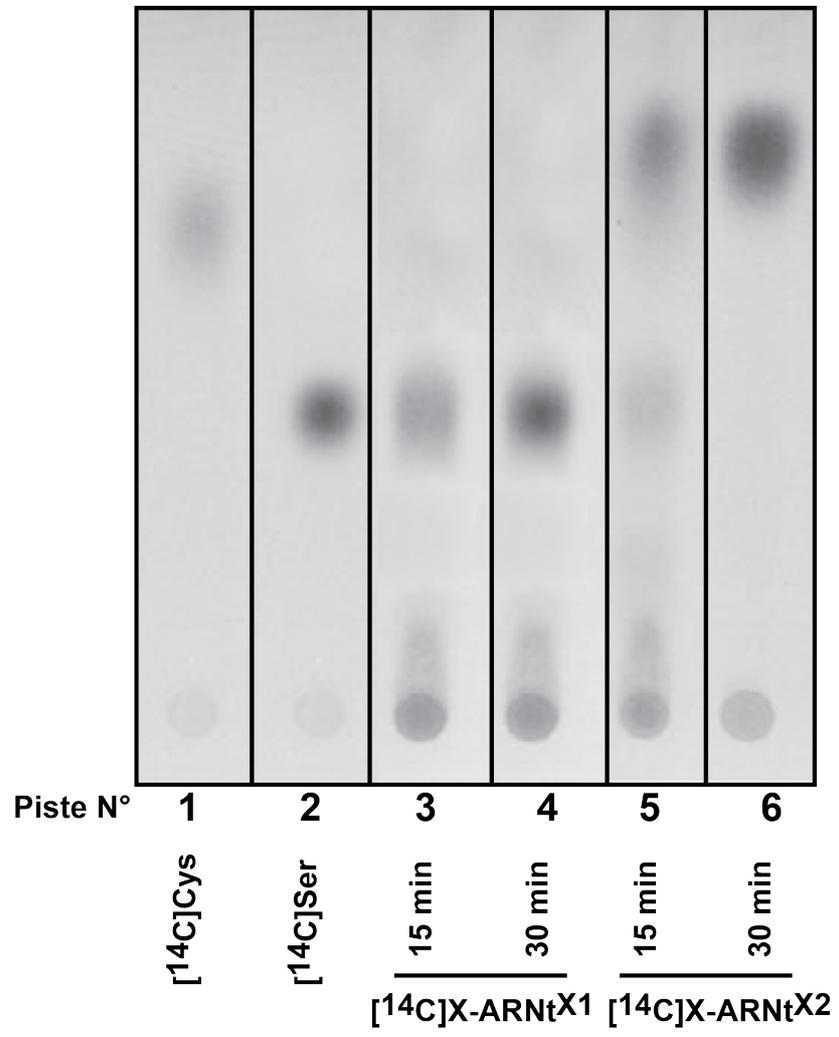
**Figure 1**

Q4) Pourquoi les chercheurs font-ils leurs incubations dans le tampon Tris-HCl pH 8,8 (1 point).

2) Les chercheurs décident d'analyser la nature de l'acide [<sup>14</sup>C] lié aux ARNtX1 et ARNtX2 après la réaction d'aminacylation excepté qu'ils prennent des aliquotes des 2 milieux réactionnels aux temps 15 min et après 30 min qu'ils transfèrent dans des tubes eppendorf. Ils extraient les aminoacyl-ARNt [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X1</sup> et [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X2</sup> en les précipitant à l'éthanol. Après centrifugation les [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X1</sup> et [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X2</sup> précipités sont centrifugés, les culots sont séchés puis les [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X1</sup> et [<sup>14</sup>C]X-ARNt<sup>X2</sup> sont repris dans une solution de Tris base pH 11 et incubés pendant 30 min à température ambiante. Une aliquote de chaque tube est déposée sur une plaque de chromatographie en couche mince (TLC) et mise à migrée en présence de certains acides aminés radiomarqués au [<sup>14</sup>C] témoin. La TLC est autoradiographiée et l'autoradiogramme correspondant est obtenu (**Figure 2**) ci-après.

Q5) En analysant la Figure 2 quelle hypothèse pouvez-vous proposer quant à la nature de l'acide aminé qui estérifie l'ARNt<sup>X2</sup> ; argumentez votre réponse (4 points).

Q6) Pourquoi dans la piste 5 y a-t'il 2 acides aminés différents et pourquoi l'un des 2 disparaît dans la piste 6 ; argumentez votre réponse (1 point).



**Figure 2**