

SESSION 2012

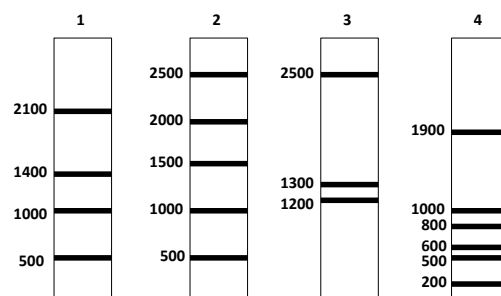
SELECTION INTERNATIONALE

ECOLE NORMALE SUPERIEURE

Biologie Moléculaire et Génétique

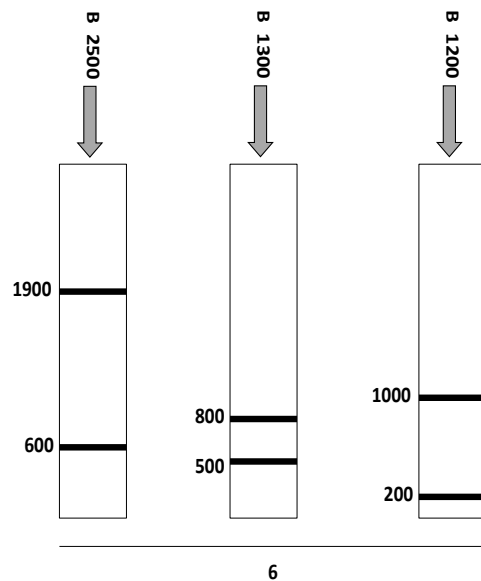
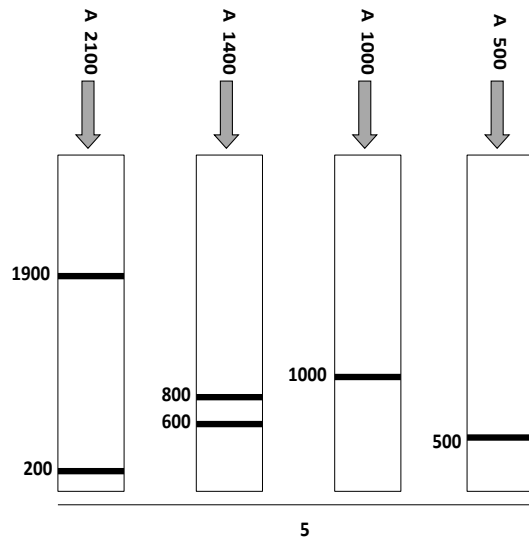
Problème 1 (30 minutes)

Une molécule d'ADN de 5000 pb a été digérée par 2 enzymes de restriction, A et B. Après la digestion, nous avons effectué une électrophorèse pour séparer les fragments. Les résultats sont présentés ci-dessous:



- 1 - Electrophorèse des fragments obtenus après digestion par l'enzyme A.
- 2 - Contrôle de l'électrophorèse avec des fragments de longueur connue.
- 3 - Electrophorèse des fragments obtenus après digestion par l'enzyme B.
- 4 - Electrophorèse des fragments obtenus après digestion par les deux enzymes (A et B).

Les fragments de restriction obtenus en 1 sont ensuite purifiés et digérés par l'enzyme B. D'une manière similaire, des fragments obtenus en 3 sont purifiés et digérés par l'enzyme A. Les résultats d'électrophorèse sont présentés ci-dessous:



5 - Fragments A digérés par B.

6 - Fragments B digérés par A.

Question 1: dessiner la carte de restriction de l'ADN et justifiez votre réponse.

Problème 2 (30 minutes)

En 2002, Elowitz et coll. ont conçu et construit un nouveau réseau synthétique pour mettre en œuvre une fonction particulière. Ils ont utilisé trois systèmes de répression de la transcription ne faisant pas partie d'un quelconque horloge biologique naturel pour construire avec un réseau oscillant, appelé le "repressilator", chez *Escherichia coli*. Dans le réseau illustré dans la figure 1a, la première protéine répresseur, LacI de *E. coli* inhibe la transcription du second gène répresseur, celui de tetR ou transposon de résistance à la tétracycline Tn10, dont la protéine produite à son tour inhibe l'expression d'un troisième gène, *cl* provenant du phage λ . Enfin, CI inhibe l'expression de lacI, complétant ainsi le cycle. Ils ont utilisé un gène rapporteur codant pour une protéine fluorescente verte (GFP) pour visualiser le comportement du système "repressilator". Les résultats sont présentés dans la figure 2.

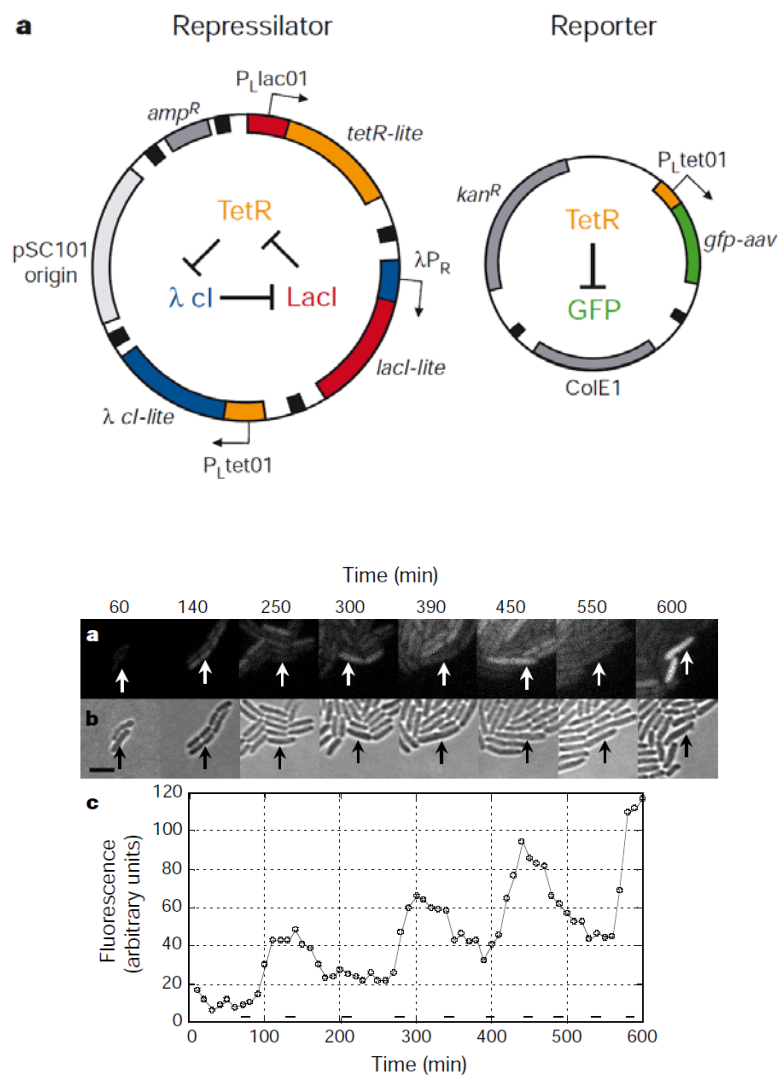


Figure 2 Repression in living bacteria. **a**, **b**, The growth and timecourse of GFP expression for a single cell of *E. coli* host strain MC4100 containing the repressilator plasmids (Fig. 1a). Snapshots of a growing microcolony were taken periodically both in fluorescence (**a**) and bright-field (**b**). **c**, The pictures in **a** and **b** correspond to peaks and troughs in the timecourse of GFP fluorescence density of the selected cell. Scale bar, 4 μ m. Bars at the bottom of **c** indicate the timing of septation events, as estimated from bright-field images.

Question 1: Expliquez les raisons du comportement oscillatoire du "repressilator" présenté dans la figure 2.

Suite à ces expériences, Elowitz et al. ont modélisé leur système "repressilator" en utilisant un système dynamique. Trois- concentrations de protéines répresseur, p_i , et leurs concentrations correspondantes d'ARNm, m_i (où i est $lacI$, $tetR$ ou cl) ont été traités comme des variables dynamiques continues. Chacune de ces six espèces moléculaires participe à des réactions de transcription, de traduction et de dégradation. Ici, ils considéré que le cas symétrique dans lequel tous les trois répresseurs sont identiques sauf pour leur spécificité de liaison à l'ADN. La cinétique du système est déterminée par six équations différentielles de premier ordre couplées:

$$\begin{aligned} \frac{dm_i}{dt} &= -m_i + \frac{\alpha}{(1 + p_j^n)} + \alpha_0 \\ \frac{dp_i}{dt} &= -\beta(p_i - m_i) \end{aligned} \quad \begin{pmatrix} i = lacI, tetR, cl \\ j = cl, lacI, tetR \end{pmatrix}$$

Question 2: expliquez les différents termes du système dynamique, lesquels sont des variables, lesquels sont des paramètres, comment ces termes interagissent les uns avec les autres (activation / inhibition), et dans quel sens ce modèle représente le système "repressilator".