Révisions TP BIOLOGIE

TP dans les conditions du concours

Durée 1 heures 30

Sujet A

Partie 1 Caractéristiques d'un vertébré aquatique 7 points

Le temps conseillé pour cette partie 1 est de 30 minutes. Un seul appel pour l'évaluation de cette partie 1 est possible.

Il est attendu que la présentation finale soit clairement organisée et en lien avec le problème posé.

Les Téléostéens présentent à la fois des éléments du plan d'organisation des Vertébrés et des caractéristiques leur permettant de réaliser leurs différentes fonctions en milieu aquatique.

Vous disposez d'un maquereau ainsi que de l'ensemble du matériel optique nécessaire à l'observation en biologie.

- Par les moyens de votre choix (observations morphologiques, dissection, préparations microscopiques), présenter les structures permettant d'identifier le maquereau comme un Vertébré aquatique.
- Faire évaluer votre travail de cette partie 1.

1) Caractéristiques du plan d'organisation des Vertébrés

- Visibles sans ouvrir l'animal : corps en 3 parties (tête, tronc, queue) ; deux paires de membres.
- Visibles après dissection : colonne vertébrale ; pancréas et foie distincts.

2) Structures liées à la vie aquatique

- Visibles sans ouvrir l'animal : yeux dépourvus de paupière ; ligne latérale ; corps recouvert d'écailles ; nageoires ; absence d'organes copulateurs.
- Visibles après dissection : 4 paires de branchies dans la cavité sous-operculaire ; cœur formé de 4 cavités disposées.
- Préparations microscopiques : écaille de la ligne latérale ; fragment de branchie

Partie 2. Autour du lait 13 points

Le temps conseillé pour la partie 2 est d'une heure. On rappelle que toute production doit être titrée, légendée et soignée

2.1 Réalisation d'un frottis de yaourt avec coloration de Gram

Expliquer, dans le cadre ci-dessous le principe de la coloration de Gram.

Réponse à la question 2.1.

La coloration de Gram permet de distinguer **deux groupes de bactéries** en fonction de la structure de leur paroi.

Elle comprend un **premier traitement au violet de gentiane** qui colore en violet le contenu de toutes les bactéries. Un traitement ultérieur par **l'alcool** sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « **Gram négatives** » : celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycanes - donc plus fine - qui laisser passer l'alcool (hydrophile), lequel élimine le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites « **Gram positives** » la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une couche de peptidoglycanes plus épaisse. Les bactéries resteront alors de couleur violette.

Pour finir, une **contre-coloration** permet de colorer en rose les bactéries Gram négatives précédemment décolorées. Les bactéries à Gram positif restées violettes sont évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

• Réaliser une coloration de Gram à partir de l'échantillon de bactéries fournies et déterminer leur type de façon raisonnée.

Faire évaluer votre préparation.

Suite de la réponse à la question 2.1.

Les bactéries apparaissent en violet après la coloration de Gram. Ce sont donc des **bactéries Gram positives** (bactéries lactiques).

2.2 Interprétation d'une électrophorèse des protéines du lactoserum

Le lactosérum, également appelé petit-lait, est la partie liquide résiduelle de la coagulation du lait. Composé d'environ 94 % d'eau, il contient notamment des protéines globulaires solubles : la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine, synthétisées au niveau des cellules épithéliales de la glande mammaire, ainsi qu'un certain nombre de protéines d'origine sanguine (immunoglobulines, sérum albumine bovine).

La **figure 1** présente les résultats d'une électrophorèse de 4 échantillons de lactosérum, dans un tampon de pH = 6,6.

• En utilisant les données du tableau 1, préciser dans le cadre ci-dessous (en argumentant votre réponse) la position de la ligne de dépôt et identifier la nature des protéines révélées sur l'électrophorèse.

Tableau 1. Caractéristiques physicochimiques des principales protéines du lactoserum

La β -lactoglobuline existe sous forme de 2 variants (A et B) qui se distinguent par la substitution des résidus aspartique et valine (64 et 118) du variant A par de la glycine et de l'alanine dans le variant B.

	β-lactoglobuline	α-lactalbumine	sérum albumine	immunoglobulines
teneur (g.kg ⁻¹)	3 à 4	1,5 à 2	0,3	0,4 à 1
masse molaire (kDa)	18	14	66	140 à 960
charge à pH 6,6	-16	-3,7	- 8	
pH isoélectrique	5,2	4,2	4,8	

Réponse à la question 2.2

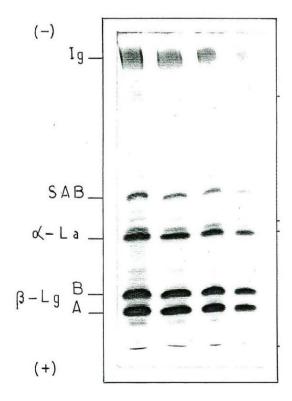


Figure 1. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide des protéines majeures du lactoserum à pH = 6,6 À pH = 6,6, toutes les protéines du lactoserum (à l'exception des immunoglobulines pour lesquels l'information n'est pas donnée) sont chargées négativement. Le dépôt s'est donc fait du côté de l'électrode (-), c'est-à-dire en haut du gel présenté sur la figure 1.

Les immunoglobulines (Ig) sont les protéines de plus forme masse molaire ; elles ne semblent pas chargées d'après le tableau 1 : elles migrent donc peu, et on les retrouve non loin de la ligne de dépôt.

La serumalbumine bovine (SAB) correspond à la bande suivante (masse molaire de 66 kDa).

Les protéines restantes ont des masses molaires voisines (18 ou 14 kDa). Elles se sparent donc en fonction de leur charge : les β -lactoglobulines (β -Lg) porteuses de 16 charges négatives migrent plus loin que l' α -lactalbumine (α -La).

Des deux β -lactoglobulines (β -Lg), la forme A porteuse des charges négatives de l'acide aspartique est celle qui migre le plus vers l'électrode (+).

2.3 L'intolérance au lactose

L'intolérance au lactose est un ensemble de symptômes bénins mais potentiellement gênants provoqués par la difficulté à digérer le lactose à l'âge adulte, en raison de la diminution de la production par l'organisme, d'une enzyme digestive : la lactase. Les adultes humains se répartissent en deux phénotypes en ce qui concerne l'aptitude à digérer le lactose : ceux de phénotype LNP (« lactase non persistants ») sont intolérants au lactose ; ceux de phénotype LP (« lactase persistants ») gardent l'aptitude à digérer le lactose durant toute leur vie car leurs cellules intestinales continuent à produire de la lactase.

Le phénotype LP est lié à une mutation d'une séquence régulatrice du gène codant la lactase : l'allèle ancestral "t" est récessif ; l'allèle "T" qui spécifie le phénotype LP est dominant.

Au Tibet, dans une population de 120 personnes, on a dénombré 118 phénotypes LNP et 2 phénotypes LP.

• Dans le cadre ci-dessous, rappeler les conditions d'application du modèle de Hardy-Weinberg.

Les conditions d'application du modèle de Hardy-Weinberg sont les suivantes :

- effectif infini permettant d'appliquer la loi des grands nombres ;
- panmixie : l'union des reproducteurs d'une même génération et celle des gamètes se font au hasard ;
- absence de forces évolutives (absence de mutation, de sélection, de dérive génétique et de migration).
 - Calculez les fréquences des allèles T et t dans la population étudiée, en appliquant le modèle de Hardy-Weinberg.

Soit p la fréquence de l'allèle T, et q celle de l'allèle t (p+q = 1). Selon le modèle de Hardy-Weinberg, les fréquences phénotypiques sont : p^2 pour le génotype TT, q^2 pour le génotype tt, 2pq pour le génotype Tt. Comme T est dominant sur t, le phénotype LP peut correspondre aux génotypes TT ou Tt. Les fréquences phénotypiques sont donc les suivantes : $f(LP) = 2pq + p^2$ et $f(LNP) = q^2$ On peut ainsi calculer $q = \sqrt{(118/120)} = 0.992$ et p = 1 - q = 0.008.

• Le séquençage de la séquence de contrôle du gène de la lactase a permis de déterminer que la fréquence de l'allèle T est égale à 0,008 dans cette population. Précisez, en argumentant votre réponse, si elle est à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

Les fréquences alléliques théoriques calculées d'après le modèle et les fréquences réelles sont égales. On peut donc considérer que le modèle s'applique à cette population.

Une étude réalisée au Soudant a révélé que la population Beja du nord du Soudan à mode de vie nomade et pastoral e qui consomme le lait de son bétail lest à 87 % de phénotype LP alors que chez les Nilotes du sud du Soudan dont l'alimentation repose beaucoup moins sur le lait et produits laitiers, la fréquence des LP est de 25,5 %.

 Proposer une hypothèse pour expliquer les différences de fréquence phénotypique entre les différentes populations étudiées (au Soudan et au Tibet).

Le fait qu'au Soudant le phénotype LP soit plus fréquent dans les populations nomades élevant le bétail que chez celles dont l'alimentation ne dépend pas du lait conduit à formuler l'hypothèse suivant laquelle l'élevage du bétail a créé un environnement entraînant un avantage sélectif aux porteurs d'un allèle permettant de maintenir l'expression du gène de la lactase chez l'adulte.

Par rapport aux populations du Soudan, la fréquence dû phénotype LP para^^it très faible puisqu'elle inférieur à 2 %. Ceci pourrait s'expliquer par un relatif isolement de la population tibétaine : l'allèle T qui n'y est pas sélectionné n'est pas non plus importé par des migrations en provenance d'autres populations qui consommeraient du lait.

2.4 Diagnose à partir d'une électronographie

 Préciser le titre et le grossissement de la figure 2 (page suivante). Compléter le tableau 2 en nommant les structures 1 à 9. Dans le cadre ci-dessous, proposer une identification raisonnée aussi précise que possible, du matériel biologique représenté.

Figure 2. Cellule d'un épithélium glandulaire vue au microscope électronique à transmission Gr x 5 000 (1 cm soit 1.10^4 µm représente 2 µm)

Tableau 2. Identification des structures repérées sur la figure 2

structure	
1.	Membrane apicale
2.	Membrane basale
3.	Noyau
4.	Mitochondrie
5.	Reticulum endoplasmique
6.	Vésicule de sécrétion
7.	Exocytose
8.	Lumière de l'acinus
9.	Lame basale
	Capillaire

Réponse à la question 2.4 : identification raisonnée

Structure délimitée par une membrane, de plusieurs dizaines de micromètres de long => cellule Cellule présentant un noyau et de nombreux compartiments => cellule eucaryote Cellule dépourvue de paroi, avec une lame basale => cellule animale Reticulum endoplasmique développé, vésicules de sécrétion, exocytose => cellule sécrétrice Polarité apico-basale marquée, sécrétion dans une lumière et non dans le système circulatoire => cellule exocrine.

Il s'agit donc d'une **cellule d'un épithélium glandulaire exocrine** ; vu contexte du thème, il pourrait s'agir d'une cellule de glande mammaire sécrétant des constituants du lait.

FIN DE L'EPREUVE