

## COMPOSITION DE BIOLOGIE

Durée: 3 heures

L'usage d'une calculatrice est interdit pour cette épreuve.

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est un eucaryote unicellulaire dont le cycle cellulaire peut inclure une phase haploïde et une phase diploïde (croisement de deux haploïdes de signe opposé). Après mutagenèse d'une souche haploïde, on recherche des mutants affectés dans l'utilisation du glucose comme source de carbone. Soit trois mutants affectés par les mutations ponctuelles xl, x2, x3. Ils présentent les phénotypes suivants :

Croissance sur 2% glucose à différentes températures:

	25°C	30°C	37°C
Mutant 1 (xl)	+	-	-
Mutant 2 (x2)	-	-	+
Mutant 3 (x3)	-	-	-

1. Quel serait le phénotype d'une souche haploïde présentant la double mutation xl x2?
2. Le croisement des différents mutants avec la souche parentale sauvage donne des souches diploïdes présentant un phénotype sauvage. Le croisement des mutants entre eux donne des souches diploïdes dont le phénotype est:

Croissance sur 2% glucose à différentes températures:

	25°C	30°C	37°C
Mutant 1 X Mutant 2	+	-	+
Mutant 1 X Mutant 3	+	+	+

Qu'en concluez-vous ?

3. Le mutant 1 pousse à 30°C avec comme source de carbone 2% fructose + 0,1% glucose. En phase exponentielle de croissance, on dose un certain nombre de métabolites dans les cellules de la souche parentale sauvage et du mutant. On obtient les valeurs suivantes (les concentrations de métabolites sont en nmoles/mg matière sèche) :

	Sauvage	Mutant 1
Glucose-6-phosphate	2,07	58,6
6-Phosphogluconate	0,16	1,09
Fructose-6-phosphate	0,43	< 0,1
Pyruvate	0,74	0,69
NAD	3,69	4,96
NADP	0,70	< 0,1

(NB: < 0,1 = inférieur au seuil de détection)

Proposez des hypothèses quant au gène muté.

4. Soit une souche haploïde connue, mutée (mutation récessive) dans un gène codant une des sous-unités de la cytochrome oxydase. Cette souche ne pousse pas avec le lactate comme seule source de carbone. De quelle(s) voie(s) métabolique(s) cette souche obtient-elle son énergie lorsqu'elle est cultivée en présence de glucose? Décrivez succinctement cette(ces) voie(s).

Le mutant 1 est croisé avec cette souche. Quel sera son phénotype ? (croissance sur glucose à 25, 30 et 37°C, croissance sur lactate)

5. Le défaut de croissance sur glucose du mutant 1 est supprimé lorsqu'on surexprime sur un plasmide multi-copie le gène GDH2, qui code une glutamate déshydrogénase NAD-dépendante (  $\text{Glutamate} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \alpha\text{-cétoglutarate} + \text{NADH} + \text{H}^+$  ).

Cette suppression de la mutation xl par surexpression de GDH2 est abolie si l'on délète le gène ZWFI codant la glucose-6-phosphate déshydrogénase (  $\text{Glucose-phosphate} + \text{NADP}^+ \rightleftharpoons \text{6-Phosphogluconate} + \text{NADPH} + \text{H}^+$  ) ou le gène GDH1 codant la glutamate déshydrogénase NADP-dépendante (  $\text{Glutamate} + \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \alpha\text{-cétoglutarate} + \text{NADPH} + \text{H}^+$  ).

Proposez une hypothèse pour expliquer ce phénotype.

Notes: 1) Les valeurs de concentration en métabolites présentées à la question 3 peuvent être prises en compte.

2) Les réactions catalysées par les produits des gènes GDH1 et GDH2 peuvent fonctionner dans les deux sens (désamination oxydative ou amination réductive).