

Corrigé DS n°2 – Épreuve sur support de documents Biologie**Thème I : mort cellulaire dans l'organisme végétal : le cas des aérénchymes lysogènes racinaires****Question 1 : Interpréter** les résultats du document 1.

Sur le cliché (a), les cellules du parenchyme cortical sont assez grosses (jusqu'à 80 μm), plutôt isodiamétriques, la paroi pecto-cellulosique est fine, le parenchyme est à méats.

Sur le cliché (b), les cellules ne changent ni de forme, ni de taille. Il apparaît des lacunes aérifères de grande taille (0,25 mm de long sur environ 0,12 de large).

Ces lacunes peuvent résulter d'une lyse cellulaire ou d'une augmentation de la taille des méats (sans perte de cellule).

Dans la mesure où le diamètre de la racine est inchangé entre le cliché (a) et le cliché (b), on conclut à une perte de cellules.

Hypothèse : La mort cellulaire peut être responsable de l'apparition des lacunes

Les évolutions constatées dans les documents ne sont pas comprises dans les barres d'erreur ; elles peuvent donc être interprétées comme résultat des variations physiologiques.

Question 2 :

a. À partir de l'analyse des résultats 1 et 2, **proposer** une hypothèse.

Résultat 1 :

Il confirme que l'hypoxie est le facteur déclenchant l'apparition de lacunes aérifères. Les morts cellulaires commencent entre la 36^{ième} et la 48^{ième} heure de culture. Leur évolution est exponentielle.

Résultat 2 :

- L'activité des cellulases est supérieure à celle du témoin dès la 36^{ième} heure alors que le nombre de lacunes aérifères n'a pas augmenté. On peut formuler l'hypothèse d'un temps de réponse élevé des cellules racinaires.
- La courbe d'évolution de l'activité cellulasique avec le temps est également exponentielle.

En confrontant les résultats 1 et 2, on constate le parallélisme des deux évolutions, suggérant une corrélation entre les deux paramètres mesurés.

On peut faire l'hypothèse que l'augmentation de l'activité cellulasique est le facteur impliqué dans la formation des lacunes aérifères, qui s'expliquerait par la nécessaire lyse pariétale accompagnant la mort et la disparition des cellules parenchymateuses.

b. À partir de l'analyse des résultats 3 et 4, **proposer** un rôle à l'éthylène.

Résultat 3 :

La production d'éthylène endogène augmente linéairement avec le temps (taux d'accroissement de 0,1 unité par jour). Cette augmentation peut être reliée à l'hypoxie puisque le développement racinaire normal n'implique pas une telle production.

On peut faire l'hypothèse que la concentration en éthylène est un facteur de contrôle endogène de la mort cellulaire dans la racine et corréler la concentration en éthylène et les manifestations de mort cellulaire : de la 36^{ième} à la 72^{ième} heure, la production en éthylène double alors que l'activité des cellulases et la quantité de lacunes sont multipliées par 7.

On peut se demander si l'augmentation de la quantité d'éthylène est liée à sa synthèse sur le site ou à une importation en provenance d'un autre secteur du végétal.

Résultat 4 :

L'activité de l'ACC synthétase augmente linéairement avec le temps (taux d'accroissement : 0,2 unités par jour environ).

La production d'éthylène semble donc être due à l'activation d'une voie métabolique.

Question 3 :**a. Interpréter** le document 3.

L'apparition de lacunes aérifères est faible, mais non nulle, dans la solution témoin. Cette formation de lacunes est probablement due au milieu de culture des racines en milieu liquide.

L'addition exogène d'éthylène sur les racines cultivées a un effet stimulant sur l'apparition des lacunes aérifères, qu'il soit ajouté à une concentration de 0,1 unité ou à une unité. Quand la concentration de l'éthylène exogène est multiplié par 10, la production de lacunes est multipliée par deux.

L'ajout d'ACC a également un effet stimulant.

Les acteurs moléculaires nécessaires à la biosynthèse de l'éthylène sont donc présents sur le site racinaire et l'augmentation de la concentration racinaire en éthylène est une cause de mort cellulaire contrôlée de cellules parenchymateuses corticales.

b. Conclure en quelques lignes sur l'ensemble du thème I.

Bilan :

Le site racinaire est le siège de la perception de l'hypoxie, d'une première transduction (conversion du stimulus hypoxie en l'activation d'une voie de synthèse de l'éthylène), d'une seconde transduction (conversion du message hormonal en l'activation d'enzymes hydrolytiques) et d'un effet biologique : apparition de lacunes aérifères.

Thème II : Mort cellulaire dans l'organisme animal et induction d'une endocytose spécifique

Question 4 : Analyser le document afin de caractériser l'entrée en apoptose.

Résultats :

Pour les cellules saines 20 % des PE totaux ont interagit avec la fluorescamine et 0 % de PS. Cela signifie que le feuillet externe de la membrane plasmique d'une cellule saine contient 20 % des PE totaux de la membrane (feuillet externe + feuillet interne) alors que ce même feuillet ne contient pas de PS.

Tous les PS sont sur le feuillet interne.

De même, le feuillet externe de la membrane plasmique d'une cellule en apoptose contient 32 % des PE totaux de la membrane et 6 % des PS totaux.

Le feuillet externe d'une cellule en apoptose est enrichi en PS et dans une moindre mesure en PE (discutable étant données les barres d'erreur) par rapport à celui d'une cellule saine.

Signification :

La composition lipidique du feuillet externe de la membrane change au cours de la mort cellulaire.

Par quel mécanisme ? → voir documents suivants

Hypothèse :

Modification de l'asymétrie membranaire due au processus de mort cellulaire.

Question 5 : Interpréter le document 5

Protocole :

Le lavage est censé éliminer les liposomes en suspension. Les lymphocytes en apoptose ajoutés au milieu de culture sont phagocytés par les macrophages.

La concentration lipidique totale égale à zéro correspond au témoin, quand aucun liposome n'a été ajouté, il n'y a que les cellules en apoptose et les macrophages.

Résultats :

1. On observe une baisse de l'indice phagocytaire avec l'augmentation de la concentration en lipides, c'est-à-dire de liposomes riche en PS ajoutés au milieu de culture.

2. Les liposomes contenant un autre phospholipide que la PS n'ont aucun effet sur l'indice phagocytaire.

Signification :

La présence des liposomes inhibe la phagocytose des lymphocytes en apoptose, tout se passe comme s'il existe une compétition entre liposomes et lymphocytes.

Conclusion :

Le changement dans l'asymétrie membranaire des phospholipides lié à l'apoptose est un signal reconnu par les macrophages susceptibles d'induire une phagocytose spécifique.

Question 6 : À partir de l'étude du document, **proposer** un modèle expliquant comment l'entrée en apoptose induit une modification de la répartition des lipides au sein de la membrane.

Pour l'ensemble des paramètres étudiés, on note que la taille des cellules est homogène (valeurs de Log FSC resserrées) et que cette taille ne varie pas entre les lymphocytes non traités et traités. On n'abordera donc pas la taille des cellules dans l'analyse.

On constate par ailleurs que l'entrée de calcium dans la cellule (cellules traitées) provoque des changements pour chacun des paramètres étudiés.

6.C

Observation : Le log Annexin V-FITC FL augmente.

Signification : Les cellules traitées fixent davantage l'annexine, molécules caractéristiques des cellules entrant en apoptose.

Conclusion : On peut faire l'hypothèse que l'entrée de calcium dans la cellule est une étape de la voie de signalisation de l'entrée en apoptose qui précède et déclenche la fixation d'annexine.

6.B

Observation : Le log NBD-PC FL augmente.

Signification : Dans les cellules traitées le passage de la PC du feuillet externe membranaire au feuillet interne est augmenté.

On sait par ailleurs que les scramblases (qui permettent un transfert bidirectionnel entre les deux feuillets de tous les phospholipides, sans direction préférentielle) sont actives dans les cellules saines.

Conclusion : L'augmentation de l'internalisation des PC peut être attribuée à une augmentation de l'activité des scramblases.

L'entrée de calcium doit stimuler (directement ou indirectement) l'activité des scramblases.

Les scramblases étant non spécifiques d'un phospholipide (PL), le passage (du feuillet externe vers l'interne (internalisation) OU du feuillet interne vers l'externe (externalisation) de tous les PL dont la PS doit être augmenté par la stimulation des scramblases par le calcium.

6.A

Observation : Le log NBD-PS FL diminue.

Signification : Les cellules traitées internalisent moins la phosphatidylsérine (PS).

On sait par ailleurs qu'une flippase permet un transfert unidirectionnel spécifique de la PS.

Conclusion : La diminution de l'internalisation des PS peut être attribuée à une diminution de l'activité de la flippase spécifique de la PS qui l'internalise.

L'entrée de calcium doit inhiber (directement ou indirectement) l'activité de la flippase spécifique de la PS.

Bilan :

L'entrée en apoptose est marquée par une entrée de calcium dans la cellule qui (directement ou indirectement) stimule l'activité des scramblases.

Les scramblases internalisent et externalisent les PL dont la PS. Ainsi, plus de PS sont transférées vers le feuillet externe.

Parallèlement, l'entrée de calcium dans la cellule inhibe (directement ou indirectement) l'activité des flippases qui internalisent spécifiquement la PS.

Le résultat est une augmentation de la teneur en PS dans le feuillet externe de la membrane (de 0 à 6 % des PS totales comme le montre le document II-1).

Question 7 : Interpréter le document 7.

On induit l'entrée en apoptose des lymphocytes.

Observations : En absence d'inhibiteur de caspases (témoin) 70 % des cellules ont achevé leur apoptose après 14h. En présence de l'inhibiteur, seules 20 % des cellules ont achevé leur apoptose.

Conclusion : L'activité des caspases est nécessaire à la réalisation de l'apoptose des lymphocytes.

Ce document permet de vérifier que les caspases (connues pour être impliquées dans le processus d'apoptose) sont impliquées dans l'apoptose des lymphocytes.

Question 8 :

a. Interpréter le document 8.

On induit l'entrée en apoptose des lymphocytes.

8. A et B

D'après le document II-3, l'induction de l'apoptose provoque une diminution de l'internalisation des PS par inhibition d'une flippase spécifique.

Observation : Le document A montre que le log NBD-PS FL diminue, c'est-à-dire que les PS sont moins internalisées, ce qui est attendu (témoin en apoptose).

En présence de l'inhibiteur des caspases, le log NBD-PS FL diminue peu par rapport au témoin.

Signification : En présence de l'inhibiteur des caspases, la PS est internalisée (comme dans des cellules saines, voir doc II-3.A), la flippase spécifique est donc active.

Conclusion : Les caspases inhibent la flippase à PS lors de l'apoptose.

8. C et D

D'après le document II-3, l'induction de l'apoptose provoque une augmentation de l'internalisation des PC par stimulation des scramblases.

Observation : Le document C montre que le log NBD-PC FL augmente, c'est-à-dire que les PC sont plus internalisées, ce qui est attendu (témoin en apoptose).

En présence de l'inhibiteur des caspases, le log NBD-PC FL n'augmente quasiment pas par rapport au témoin.

Signification : En présence de l'inhibiteur des caspases, la PC est moins internalisée (comme dans des cellules saines, voir doc II-3.B), les scramblases sont donc moins actives.

Conclusion : Les caspases stimulent les scramblases lors de l'apoptose.

8. E et F

Observation : Dans les cellules en apoptoses (témoin – doc E), on observe une valeur importante de Log Acridine Or. FL

Signification : Dans les cellules en apoptoses, la chromatine est dégradée.

Observation : En présence de l'inhibiteur des caspases (doc F), on observe une diminution de la valeur du Log Acridine Or. FL

Signification : En présence de l'inhibiteur des caspases, la chromatine est moins dégradée.

Conclusion : Les caspases induisent la lyse de la chromatine lors de l'apoptose.

b. Réaliser un schéma bilan résumant les mécanismes liés à l'apoptose que l'on peut déduire de l'ensemble du thème.

