

ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOLOGIE

ENS : PARIS LYON CACHAN

Coefficients : **PARIS** : Option Biologie : 7 / Option Géologie : 4
LYON : Option Biologie : 8 / Option Sciences de la Terre : 4
CACHAN : 8

MEMBRES DU JURY : D. BUSTI, N. CAUDRON, A. CORBIN, C. DUBACQ, M.-H. KRYSZKE, S. LE CROM, G. PEYROCHE, P. PLA, B. SCHNEIDER

L'épreuve de biologie de cette année, d'une durée totale de 6 h, comportait un sujet de synthèse d'une durée conseillée de 2 h 30 et deux sujets sur documents d'une durée conseillée de 1 h 45 chacun. L'ensemble était construit autour d'une thématique commune sur les hormones végétales et le monoxyde d'azote pour les parties avec documents.

Comme les années précédentes, la gestion du temps à consacrer aux différentes parties était particulièrement importante. En effet, le sujet de synthèse demandait de réunir et d'organiser des notions disséminées en différents endroits du programme, et surtout de les présenter de façon claire et concise en évitant de restituer directement des parties entières de cours. Il fallait éviter de consacrer tout le temps de l'épreuve au sujet de synthèse et par conséquent de répondre trop vite aux questions avec documents et ainsi de passer à côté de résultats importants.

Comme dans les rapports des années précédentes, on ne rappellera jamais assez qu'il n'est pas nécessaire qu'une réponse soit très longue pour qu'elle soit correcte. Il est préférable par exemple de remplacer une longue explication par un schéma bien plus clair et explicite, l'essentiel étant de faire toujours ressortir les points les plus importants en évitant les répétitions. À ce titre, dans les parties avec documents, s'il est évident qu'expliquer les résultats obtenus sur les figures est nécessaire pour étayer les conclusions, il ne s'agit pas de répéter simplement en traduisant en chiffres ce que montrent les courbes. Il est beaucoup plus utile de représenter des graphes statiques sous une forme dynamique, en utilisant les termes « augmentation » ou « baisse » par exemple et de donner plutôt des valeurs chiffrées aux différences observées. Les conclusions sont également souvent données sans rapport direct entre les arguments invoqués. Il est donc conseillé d'analyser rigoureusement les expériences et de clairement séparer les conclusions validées par les expériences des éventuelles hypothèses qu'elles peuvent susciter mais qui ne sont pas formellement démontrées. Il est également regrettable de constater que seul un nombre minime de candidats est capable d'interpréter correctement la présence de barres d'erreur et de discuter la « significativité » des résultats. De même la précision du vocabulaire est capitale : « l'enzyme est plus active » ne veut pas dire la même chose que « l'activité de l'enzyme est augmentée » car on peut dans le deuxième cas envisager une augmentation de la concentration d'enzyme.

Enfin, il est recommandé au candidat pour les épreuves futures, de ne pas se laisser déstabiliser par une technique expérimentale non vue lors des années de classe préparatoire. Une lecture attentive de l'énoncé, du bon sens et un minimum d'imagination permettent d'aborder les questions plus difficiles avec succès.

Partie 1 : Sujet de synthèse - La diversité et les rôles des hormones végétales

Deux grands types de sujets de synthèse sont proposés classiquement aux concours :

- soit des sujets demandant d'être capable de synthétiser les données face à une grande masse d'informations portant sur un point précis du programme, et de ne présenter que les aspects importants ;
- soit des sujets ayant pour but de rassembler des éléments répartis en divers endroits du programme et demandant au candidat d'être capable d'organiser les informations et de les présenter avec cohérence.

Le sujet sur les hormones végétales présenté cette année appartenait à cette deuxième catégorie. Le but était donc de rassembler les différents exemples impliquant les hormones végétales vues au cours des deux années de préparation et de les présenter de façon cohérente. Comme indiqué dans l'énoncé, il était primordial de choisir avec soin les exemples présentés et de porter une attention particulière à l'organisation des idées. Il était donc plutôt déconseillé d'être exhaustif en présentant par exemple l'ensemble de l'historique de la découverte de l'auxine.

La construction d'un plan logique et répondant de façon efficace au sujet était donc l'objectif principal de ce sujet de synthèse. Il fallait privilégier, au travers des différents exemples vus dans le programme, les principaux concepts définissant les hormones végétales, les exemples étant là pour servir d'illustrations à ces concepts. D'un point de vue général, aucun bonus n'a été accordé lorsque les exemples ont été multipliés pour présenter la même idée. Dans un trop grand nombre de copies, on trouve encore des exemples décrits sans aucune conclusion ou sans aucune justification. Ainsi la répartition de l'auxine dans la plante est une information sans intérêt si on n'explique pas en parallèle que cette répartition traduit des lieux de synthèse et un mode de transport spécifique et également que cette répartition est en relation avec différents modes d'action de l'auxine selon les tissus et selon sa concentration. L'auxine pouvait ainsi servir d'exemple principal à l'illustration de tous les concepts définissant la notion d'hormone, les autres hormones pouvant être abordées de façon plus ponctuelle. De nombreux exemples impliquant d'autres hormones que l'auxine ont d'ailleurs été décrits dans la majorité des copies comme la germination, la levée de la dormance, la réponse au stress hydrique (via le contrôle de l'ouverture stomatique par l'acide abscissique) ou encore la chute des feuilles. Tous ces exemples devaient permettre aux candidats de souligner les principaux concepts liés à la notion d'hormone tels que l'action à distance du point de production ou encore l'importance de la concentration. L'énoncé mettait également l'accent sur le choix d'exemples pertinents, il n'était donc pas nécessaire de détailler à la fois le phototropisme et le gravitropisme, ces deux exemples illustrant les mêmes facettes du fonctionnement des hormones.

On attendait donc du candidat d'une part la mise en évidence de la notion d'hormone chez les végétaux à travers des expériences précises pouvant être empruntées par exemple à la découverte du fonctionnement du phototropisme, d'autre part la mise en évidence de la diversité des hormones au travers de leurs lieux de production (absence de tissus spécifiques), de leurs modes de transport, de leurs rôles à l'échelle de la plante entière (comme la croissance, l'élongation, la différenciation, l'organogenèse et l'adaptation au milieu) et de leurs modes d'action à l'échelle cellulaire. Ce dernier aspect devait amener le candidat à présenter la variété des voies de transduction du signal et des réponses cellulaires, à travers les exemples du mode d'action de l'auxine sur les cellules en croissance et de l'acide abscissique sur les cellules stomatiques. Bien que souvent présentés séparément, ces exemples n'ont jamais donné lieu à un parallèle permettant de mettre en évidence une quelconque diversité.

Enfin, il est à regretter qu'un trop petit nombre de copies fasse correctement la comparaison entre les hormones végétales et les hormones animales (dont la définition n'est pas toujours complète) et surtout pour des filières préparant à des écoles d'agronomie, que trop peu de copies donne des exemples d'utilisation des hormones en biotechnologie végétale !

Partie 2 : Le monoxyde d'azote et l'hypoxie

Cet exercice permettait de mettre en évidence une voie de contrôle de l'apport de dioxygène aux

cellules grâce à la vasodilatation locale activée par l'hypoxie via la production de NO. Les deux premières parties de l'exercice permettaient de comprendre comment les cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux sanguins peuvent se relâcher en présence de NO et les deux dernières parties abordaient le lien entre la production de NO et l'hypoxie dans les cellules endothéliales. Les questions posées dans cet exercice étaient de difficulté conceptuelle et technique croissante, ce qui s'est parfaitement reflété dans la répartition des performances des candidats. La grande majorité a traité correctement les premières questions et seule une minorité (10% environ des candidats) a compris les dernières questions.

En introduction, une question de cours était posée aux candidats permettant de replacer l'exercice dans un contexte plus général. Si cette question a le plus souvent été bien traitée, aucun candidat n'a cité l'ensemble des paramètres permettant de réguler l'apport de dioxygène aux cellules : ventilation (volume d'air inspiré et fréquence respiratoire), débit cardiaque (volume d'éjection systolique et fréquence cardiaque), diamètre des vaisseaux (contrôlé par vasoconstriction et vasodilatation), affinité de l'hémoglobine pour le dioxygène (propriétés allostériques, effet Bohr), quantité de globules rouges dans le sang (à plus long terme). Certains candidats ont perdu un temps précieux à réciter dans les détails leur tranche de cours sur le sujet.

La question A permettait de montrer que dans les cellules musculaires lisses le NO, agissant probablement via le GMPc, augmente l'activité de la MLCP et inhibe l'action de la MLCK (par diminution de la concentration en Ca^{2+} cytosolique) ce qui aboutit à une déphosphorylation de la MRLC et à un relâchement musculaire. Cette question a été traitée avec succès par la majorité des candidats. Certains candidats n'ont cependant pas su tirer profit des données de l'énoncé. D'autres, qui visiblement connaissaient déjà ces voies de transduction cellulaire se sont précipités trop vite et sans véritable justification vers leur modèle de cours.

Dans la question B, on prenait pour modèle des cellules rénales « naïves » par rapport au système de signalisation des cellules musculaires lisses et des expériences menées sur des lignées transfectées permettaient d'appréhender dans ce système le rôle des différents acteurs présents dans la cellule musculaire lisse. Ces expériences permettaient de montrer que le NO augmente la quantité de GMPc par activation de la guanylyl cyclase qui convertit le GTP en GMPc (un bonus a été attribué aux quelques candidats qui ont su écrire la réaction, la formule développée du GMPc étant donnée). Entrait ensuite en jeu PDE5, une phosphodiesterase qui dégrade le GMPc en GMP. Dans cette question, il est apparu que beaucoup de candidats ne connaissent pas la fonction « phosphodiester ». De nombreux candidats ont imaginé que la PDE5 régénère le GTP à partir du GMPc. La mutation d'une sérine de PDE5 en alanine aboutissait à une augmentation de l'activité de la phosphodiesterase. Les activités de la PDE5 mutée ou de la PDE5 sauvage étaient augmentées selon des proportions similaires par le NO ce qui permettait de conclure que le NO contrôle (peut-être via le GMPc) l'activité de la PDE5 (exerçant ainsi un rétrocontrôle négatif) et que ce contrôle n'implique pas la sérine 102, contrairement à ce que beaucoup de candidats ont cru déceler. Une expérience permettait de vérifier que les résultats obtenus dans les lignées de cellules rénales modélisaient bien ce qu'il se passe dans des cellules musculaires lisses aortiques qui sont les cellules-cibles « naturelles » du NO. Cet aspect n'a pas été compris par une bonne partie des candidats.

La question C abordait la régulation de la production du NO dans les cellules endothéliales. La notion de gène rapporteur n'est pas connue de la grande majorité des candidats. Certains la confondent avec la notion de gène de sélection voire de gène homéotique. La définition était pourtant quasiment donnée dans l'énoncé ! Très peu d'exemples d'autres gènes rapporteurs sont connus par les candidats qui en ont donné une définition correcte. La question suivante permettait de montrer que le fragment du promoteur du gène *eNOS* situé entre les paires de bases 5039 et 5523 en amont du site de démarrage de la transcription contenait un site régulateur de la transcription de *eNOS* induit par l'hypoxie. Une analyse de ce fragment à la DNase (empreinte à la DNase), effectuée en présence d'extraits protéiques issus de cellules placées en normoxie ou en hypoxie,

permettait de localiser plus précisément le site régulateur et de montrer qu'il correspond à un site de fixation à un ou plusieurs facteurs de transcription en hypoxie. Des expériences de retard sur gel permettaient, grâce à l'utilisation d'anticorps spécifiques, de proposer que le facteur HIF-1 participe à cette régulation. Ces questions ont posé des difficultés à une majorité de candidats alors que l'énoncé contenait suffisamment d'éléments pour comprendre les techniques mises en jeu sans les avoir vues au préalable. Beaucoup de candidats se sont fourvoyés dans des raisonnements erronés, faute d'avoir rigoureusement lu le protocole expérimental donné dans l'énoncé. Notamment sur des autoradiographies de gel d'électrophorèse, on ne peut voir que les molécules marquées, c'est-à-dire ici les fragments d'ADN ou les oligonucléotides et non les protéines ! À l'inverse d'autres candidats n'ont pas su imaginer que dans des extraits nucléaires il pouvait y avoir des protéines et pas seulement de l'ADN. Il était surprenant de constater que beaucoup de candidats n'ont pas su faire un schéma expliquant le principe de l'empreinte à la DNase mais ont quand même bien analysé les résultats de cette expérience. Cependant, beaucoup sont allés trop vite et ont désigné HIF-1 comme le facteur se fixant sur le fragment d'ADN dans l'expérience d'empreinte à la DNase alors que cela n'est formellement démontré que par les expériences de retard sur gel avec anticorps spécifique.

La question D abordait le contrôle de la dégradation de HIF-1, qui dépend d'un domaine ODD. Des expériences de gel retard permettaient de montrer que l'ODD est nécessaire à la dégradation de HIF-1 non seulement en conditions normoxiques mais aussi en présence de NO, ce qui mettait en évidence un nouveau rétrocontrôle négatif. Une dernière expérience utilisant une protéine chimérique Gal4-ODD permettait de démontrer que le domaine ODD est suffisant pour conférer à une protéine les propriétés de dégradation en conditions normoxiques ou sous contrôle du NO. Quelques candidats ont su brillamment répondre à cette question. Dans la majorité des cas, ces candidats se sont aussi révélés performants dans les autres parties du devoir, ce qui montre que cette question a permis d'amplifier la sélection des meilleurs candidats. Une dernière question proposait de résumer l'ensemble des résultats sur un schéma. Arrivé à ce stade de l'exercice, certains n'avaient toujours pas compris que le NO permet la communication entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses (malgré un énoncé qui précisait par exemple que eNOS est exclusivement exprimé dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins) et ont ainsi présenté le NO comme une « simple » molécule de transduction intracellulaire dans les cellules musculaires lisses.

Partie 3 : Le monoxyde d'azote dans la réponse au stress hydrique

Cette dernière partie du sujet avait pour but de mettre progressivement en évidence le rôle du NO lors de la réponse au stress hydrique entraînant la fermeture du stomate. Si une majorité des candidats a réussi à atteindre le bilan final et à replacer la majeure partie des éléments sur le schéma récapitulatif, seuls les meilleurs d'entre eux ont pu reconstruire la cascade d'événements dans son ensemble. Le traitement de la partie 3 exigeait des candidats qu'ils analysent de façon précise et séquentielle les différentes données de chacun des graphes présentés et non qu'ils cherchent à interpréter l'ensemble de l'expérience en une fois. Cette analyse globale a d'ailleurs bien souvent été à l'origine de réponses incorrectes ou incomplètes.

Dans les questions 18 à 20, le NO et non ses produits de dégradation, était présenté comme intervenant dans la résistance des plantes à la sécheresse à travers le contrôle de la fermeture des stomates, selon un mécanisme de type dose-réponse et ce dans plusieurs espèces différentes. Très peu de candidats savent interpréter correctement la présence de barres d'erreurs dans un histogramme et tirent des conclusions erronées à partir de données qui sont en fait non significatives. Beaucoup de candidats ont ainsi vu un retard dans la déshydratation des feuilles lié à la production de $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ au bout d'une heure de sécheresse. À l'extrême, cette erreur s'est répercutée à la question suivante et a donné lieu à des interprétations farfelues. Il est également à noter que la notion de biais expérimental n'est connue et comprise que par une infime minorité des

candidats. La question ne demandait pas quelle autre expérience on aurait pu effectuer mais pourquoi cette expérience pouvait entraîner des erreurs d'interprétation : les feuilles étant détachées, elles se déshydratent par leur pétiole.

Les questions 21, 22, 23 et 24 permettaient de comprendre comment le NO intervient dans la cascade d'événements conduisant à la fermeture des stomates. Les résultats de la figure 4 montrent ainsi que la synthèse et l'action du NO sont requises pour la fermeture des ostioles induite par l'acide abscissique (ABA). Cette production semble passer en partie par l'activation de la NO synthase. La figure 5 permet quant à elle de mettre en évidence l'implication de seconds messagers dans la transduction du signal induite par le NO. Les résultats montrent ainsi que si le GMPc est requis, il n'est pas suffisant pour la fermeture des ostioles, l'ADPRc intervenant également dans ce mécanisme. La figure 6 mettait en évidence que la fermeture des stomates est liée à l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} cytosolique, l'effet de l'EGTA sur l'action du NO étant réversible, on peut en déduire que le NO agit en amont du Ca^{2+} . L'utilisation de conditions expérimentales différentes mettant en présence le SNP et le c-PTIO permettait de montrer une certaine fuite du système ainsi que l'action réversible du c-PTIO. Ces questions ont été abordées par la majorité des candidats, mais ont très souvent donné lieu à une transcription pure des résultats observés sans réelle analyse du rôle du NO dans la fermeture des stomates. Ainsi, très peu ont conclu que le GMPc seul n'était pas suffisant à l'action de l'ABA et qu'une seconde voie de transduction (également activée par l'ABA) devait intervenir. Certaines copies mélangent les notions d'hormones et de seconds messagers. Enfin, pour comprendre l'action de chaque molécule sur le phénomène observé (fermeture des stomates), il est nécessaire de comparer les effets deux à deux, plutôt que de comparer les résultats par groupe (stomates ouverts ou fermés).

Les questions 25 et 26 mettaient en évidence que la production de NO entraîne non seulement l'augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$ au repos mais également facilite l'augmentation de la $[Ca^{2+}]_i$ lors des dépolarisations. Le tableau confirme que l'augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ induite par la production de NO est due aux seconds messagers GMPc et ADPRc, le NO pouvant intervenir en modifiant la sensibilité des canaux calciques présents à la surface de la membrane vacuolaire. Les candidats qui ont conclu que les modifications de flux de calcium provenaient de l'ouverture de canaux voltage-dépendants ont obtenu un bonus.

Pour terminer, le schéma récapitulatif devait permettre aux candidats de replacer tous les éléments de la cascade d'événements allant de l'émission du signal ABA jusqu'à l'ouverture des canaux calciques vacuolaires. Quelques candidats ont même remplacé les différents inhibiteurs et activateurs sur ce schéma alors que certains n'arrivent pas à localiser les réactions décrites à l'échelle de la cellule.