
EPREUVE ECRITE DE BIOLOGIE
ENS : PARIS – LYON - CACHAN

Durée : 6 heures *Coefficients : PARIS 7 - LYON 6 - CACHAN 8*

**MEMBRES DU JURYS : JG. BARBARA, N. CAUDRON, A. CORBIN, J.L. GIRANTON,
U. HAZAN, MH. KRYSZKE, I. NEGRUTIU, G. VOGÉ**

INTRODUCTION

L'épreuve écrite de biologie proposée cette année comportait un sujet de synthèse et un sujet d'analyse qui étaient reliés par une thématique commune : la mitochondrie. Une des difficultés de l'épreuve résidait dans la bonne gestion du temps. Les candidats n'ont aucun intérêt à négliger une partie au profit de l'autre. Seuls les meilleurs d'entre eux, ayant une vision claire du sujet et ayant su répondre de façon synthétique et précise aux questions ont pu tout traiter. Les candidats qui ont fait l'effort de traiter le sujet en profondeur plutôt que de chercher à «grappiller» ça et là des points sur les questions les plus faciles ont été favorisés lors de la correction.

SUJET DE SYNTHÈSE

Généralités

Cette année, il ne portait pas sur un concept biologique général pouvant être illustré par de nombreux points du programme, mais sur un thème beaucoup plus circonscrit. Ainsi, l'acquisition de connaissances précises par les candidats était déterminante. Toutefois, un sujet de synthèse ne porte pas sur un seul point du programme. Les candidats ne peuvent se dispenser d'une analyse de son énoncé, d'un effort de synthèse et d'organisation de leurs connaissances, de façon à couvrir tous ses aspects. Ce sujet ne comportait pas de difficulté d'interprétation. Il était proposé aux candidats d'exposer leurs connaissances sur un organite cellulaire : la mitochondrie. Les aspects biochimiques, certes importants, ne devaient constituer qu'une partie du devoir et devaient être replacés dans le contexte général de la biologie cellulaire. Pourtant, la majorité des candidats ont réduit le sujet à la synthèse d'ATP dans les mitochondries. Ils se sont contentés de restituer leur cours de bioénergétique, tout juste agrémenté par un schéma plus ou moins correct de mitochondrie et par l'évocation de l'origine endosymbiotique de cet organite. Certains ont des connaissances solides mais se contentent de décrire des structures, des mécanismes, des réactions sans réelle volonté de montrer la pertinence des points qu'ils ont choisi de détailler. D'autres restent superficiels et se contentent d'un discours général ne reposant pas sur des données précises. Concernant la forme, nous tenons à saluer les efforts de présentation des copies. Par contre certains candidats ont été pénalisés par d'importants problèmes d'expression ou d'orthographe.

Remarques spécifiques

Il était nécessaire de préciser la répartition des mitochondries (restriction aux cellules eucaryotes et variations en fonction du type cellulaire et de l'activité métabolique), ainsi que leurs principales caractéristiques structurales (morphologie, dimensions approximatives, compartimentation, etc.). Certains candidats ont clairement dégagé les conséquences fonctionnelles de ces particularités structurales en insistant, par exemple, sur la composition et les propriétés différentes de chacune des membranes ou sur la présence d'un génome et d'un appareil d'expression spécifiquement mitochondriaux.

Si les grandes lignes du métabolisme énergétique associé aux mitochondries sont connues de la plupart des candidats, beaucoup d'entre eux se contentent de l'énumération des réactions et des structures voire des mécanismes moléculaires impliqués (pyruvate déshydrogénase, cycle de Krebs, chaîne respiratoire et ATP synthétase). Seuls les meilleurs ont su utiliser ces connaissances pour dégager clairement les relations entre les notions de transfert d'électrons et de protons, d'oxydations phosphorylantes et les particularités structurales et biochimiques des mitochondries. La précision et la pertinence des données exposées, l'utilisation de résultats d'expériences marquantes sont toujours hautement appréciées. Cela ne justifie cependant pas une surenchère de connaissances mal maîtrisées. Certains par étourderie, d'autres parce qu'ils ont préjugé de la précision de leur savoir, ont pu écrire que les mitochondries produisaient du dioxygène, décrire des structures présentes uniquement dans les chloroplastes, maltraiter le cycle de Krebs, donner des formules chimiques complètement fausses (alors qu'elles n'étaient pas attendues), ou encore inventer des mises en évidence expérimentales totalement irréalistes.

Les candidats qui ont pris le temps de réfléchir à l'intitulé du sujet, qui ont su rester concis et n'ont pas axé tout leur devoir sur la synthèse d'ATP ont pu signaler, voire illustrer avec précision d'autres fonctions biochimiques des mitochondries. Ainsi, certains ont avec raison traité les notions suivantes :

- La thermogenèse sans frisson est due à l'existence de protéines découplantes dans les membranes mitochondriales du tissu adipeux brun.
- L'acétylcoenzyme A n'est pas uniquement le produit d'une réaction catalysée par la pyruvate déshydrogénase mais est aussi celui de l'oxydation des acides gras dans les mitochondries.
- L'acétylcoenzyme A et le cycle de Krebs se situent à un carrefour métabolique important à l'origine de nombreuses voies de synthèse.
- Les mitochondries coopèrent aussi avec d'autres structures cellulaires, par exemple dans le cycle de l'urée, pour la synthèse d'hormones sexuelles chez les animaux et lors de la photorespiration chez les plantes.

L'origine des mitochondries et de leur intégration dans les cellules eucaryotes constituait un aspect important du sujet. Trop de candidats pensent que l'origine endosymbiotique des mitochondries ne reste qu'une théorie purement spéculative. Il convenait d'exposer les arguments qui l'étayaient, en particulier les nombreux points communs entre mitochondries et procaryotes. De même, trop de candidats se contentent de dire que les mitochondries sont des organites semi-autonomes sans plus d'explications. Cette notion posait pourtant les questions d'une part de l'adressage des protéines mitochondriales codées par le génome nucléaire et d'autre part de la multiplication et de la transmission des mitochondries de génération cellulaire en génération cellulaire. Même si les conséquences génétiques qui en résultent n'étaient pas attendues, certains candidats ont très justement signalé la transmission cytoplasmique (et éventuellement maternelle) du génome mitochondrial. Curieusement, peu de candidats ont pensé à mentionner l'existence de maladies d'origine mitochondriale. L'intégration des mitochondries dans les cellules eucaryotes se manifeste aussi à travers les échanges de métabolites avec le cytoplasme : transport du pyruvate, échanges ADP/ATP, systèmes navettes, porines de la membrane externe, etc.

En conclusion, les meilleures copies sont celles dans lesquelles transparait un réel effort de réflexion et de synthèse, ne se limitant pas à un devoir de bioénergétique mais abordant le sujet sous ses multiples aspects.

SUJET AVEC DOCUMENTS

Généralités

Ce sujet permettait de tester les capacités de raisonnement des candidats, leur maîtrise de domaines aussi variés que la biologie moléculaire, la génétique, la biochimie et la physiologie cardiaque ainsi que leur aptitude à synthétiser des données provenant de ces différents domaines. Leur sens de l'observation était aussi sollicité sur des documents autres que les traditionnels clichés de microscopie. Enfin, il évaluait leurs capacités à appliquer à un problème biologique des compétences acquises dans d'autres matières (calculs de probabilités, calculs numériques simples, etc.). Les calculs et applications numériques ont globalement posé de gros problèmes aux candidats. De plus, certains d'entre eux manquent totalement de sens critique vis-à-vis de leurs réponses. Il n'hésitent pas à écrire que dans la famille étudiée la probabilité d'avoir la PEO augmente de génération en génération, que la masse d'ADN mitochondrial par cellule s'élève à 10^{34} grammes, qu'un ventricule a un volume de 1,5 litre, que des débits cardiaques sont égaux à $1 \text{ mL} \cdot \text{minute}^{-1}$, etc. De telles erreurs ne peuvent que donner une mauvaise impression d'ensemble de la copie.

Remarques spécifiques

Partie A

Cet exercice de biologie moléculaire présentait une pathologie se traduisant par des troubles musculaires associés à l'accumulation de délétions de l'ADN mitochondrial. S'il demandait une certaine réflexion, nous ne nous attendions pas à ce que les candidats éprouvent autant de difficultés dans l'interprétation d'une expérience classique de Southern blot.

Question A1 :

Beaucoup se sont contentés de décrire l'autoradiographie et n'ont pas su interpréter leurs observations en termes de taille des ADN mitochondriaux. L'apparition de nouvelles bandes chez les sujets atteints ne pouvait s'expliquer par la présence de nouveaux sites de restriction. En effet, selon cette hypothèse, chaque site supplémentaire aurait dû conduire à l'apparition de deux bandes dont la somme des tailles aurait dû être égale à celle du génome complet. Or cela ne correspondait pas aux résultats de la figure 2. L'hypothèse la plus vraisemblable était alors celle de délétions n'intéressant que certaines copies de l'ADN mitochondrial.

Vu le petit nombre d'individus étudiés, les différences entre sujets atteints ne pouvaient être corrélées de façon certaine ni avec leurs différences d'âge, ni avec leur sexe. Tout au plus pouvait-on envisager ces hypothèses, l'une d'entre elles étant finalement confortée lors de l'analyse de la figure 4 (question A5).

Questions A2 à A3 :

Il s'agissait d'un exercice de cartographie destiné à localiser les régions où avaient lieu les délétions de l'ADN mitochondrial chez les malades. A l'évidence, la grande majorité des candidats n'ont pas une compréhension claire de la technique de Southern. Ils confondent l'ADN mitochondrial, soumis à électrophorèse, avec la sonde qui permet de le détecter après transfert sur membrane. Ainsi, la révélation par la sonde XK d'une unique bande, correspondant à l'ADN mitochondrial complet, signifiait que les autres bandes observées dans la figure 1 ne contenaient pas la région s'hybridant avec la sonde XK. Il était alors possible de déduire que la région XK était systématiquement délétée dans les génomes mitochondriaux anormaux.

Question A4 :

Cette question était difficile et exigeait l'observation attentive de la figure 3. Les candidats devaient remarquer la présence d'homologies de séquences de 4 à 12 nucléotides aux bornes de chacune des régions délétées. Quelques-uns d'entre eux ont su proposer un mécanisme

compatible avec cette observation (recombinaison au niveau de ces séquences, ou erreur lors de la réplication de l'ADN.

Question A5 :

La figure 4 a été bien analysée par la plupart des candidats. Cependant peu d'entre eux ont correctement interprété les anomalies du génome mitochondrial. L'hétérogénéité des délétions de l'ADN mitochondrial parmi les sujets atteints d'une même famille et leur accumulation au cours du temps chez les malades indiquaient que les anomalies du génome mitochondrial, bien que contribuant à la genèse des symptômes observés, ne pouvaient en aucun cas être considérées comme la cause première de la pathologie héréditaire étudiée.

Partie B

Cet exercice a été très discriminant. Il obligeait les candidats à utiliser leurs connaissances de génétique et de calcul des probabilités sur un cas concret. A ce stade, l'origine autosomique de la PEO était clairement affirmée et permettait de comprendre que les délétions observées dans le génome mitochondrial n'étaient certainement pas l'anomalie génétique héritée mais l'une de ses conséquences. Certains candidats ont remarquablement traité cette partie, justifiant parfaitement, par élimination des autres possibilités, le mode de transmission et donnant des explications claires et concises de leurs calculs. D'autres ont commis de grosses erreurs de calculs ou se sont (parfois longuement) fourvoyés dans des explications confuses. Notons aussi que beaucoup d'entre eux n'ont pas su appliquer le théorème de Bayès qui leur était donné à la question 3 ou exploiter les données de l'énoncé et de l'arbre généalogique qui leur était fourni. Ainsi :

- La proportion de 25% de néomutations signifiait que 25% des cas de PEO observés résultaient d'une néomutation et non pas que 25% des finlandais étaient atteints de PEO.
- À la question B1-2, il fallait tenir compte de la maladie avérée de II3 pour calculer les probabilités que III6 et IV5 soient porteurs.
- À la question B2-1, l'absence de symptômes de III1 à 59 ans permettait d'affirmer qu'il n'était pas porteur de la maladie et que III1 n'avait pas plus de risque de transmettre la maladie à son enfant que le reste de la population finlandaise.

Partie C

Questions C1 et C2 :

Curieusement, beaucoup de candidats connaissent par cœur l'équation de Michaelis-Menten mais sont incapables de l'exploiter. Il était impossible de conclure à la nature michaelienne de la cinétique et de déterminer le type d'inhibition exercée par ATR et CATR à la simple observation de la courbe $v_T = f([ADP])$. Une des solutions était de vérifier la linéarité de la représentation de Lineweaver et Burk $1/v_T = f(1/[ADP])$. Le soin apporté au tracé des graphes était souvent très insuffisant.

Questions C3 et C4 :

Ces questions ne demandaient pas de connaissances particulières. Les expériences devaient mettre en évidence que le BKA et le CATR (inhibiteurs compétitifs) agissaient sur des faces opposées de la membrane interne mitochondriale. Cela signifiait que les sites de liaison à l'ADP étaient présents aux deux faces de la membrane mitochondriale. L'effet observé avec le BKA introduit face externe était lié à la diffusion de la molécule sous sa forme non ionisée à travers la membrane. L'hypothèse d'une interaction différente du BKA en fonction de son état d'ionisation et de la face membranaire était aussi acceptée. Certains candidats n'ont pas compris les expériences réalisées et ont raisonné comme s'ils étaient encore en présence de mitochondries intègres. Ils ont tenté d'expliquer les résultats en faisant intervenir l'ATP par exemple.

Question C5 :

Il fallait remarquer que l'évolution de $\ln v_T$ en fonction de $1/T$ n'était pas linéaire sur tout l'intervalle de température considéré. La courbe était constituée de deux portions de droites de pentes négatives. L'énergie d'activation augmentait brusquement dès que la température descendait en dessous de 7-8°C.

Question C6 :

Cette question a été correctement traitée par la majorité des candidats mais bien peu ont formulé des hypothèses dans le but d'expliquer la corrélation observée entre l'énergie d'activation et la fluidité membranaire (effet direct de la fluidité, intervention d'autres facteurs membranaires diffusibles, association de plusieurs protéines ANT1).

Partie D

Cette partie permettait de faire la synthèse des parties précédentes et notamment de proposer un mécanisme conduisant d'un défaut de ANT1 à l'accumulation de délétions dans le génome mitochondrial. Elle n'a été abordée que par un petit nombre de candidats.

Question D1 :

Le calcul de la masse m d'ADN mitochondrial a été globalement mal mené alors qu'il reposait sur une mise en équation simple :

$$m = \frac{2 \times M \times L \times n}{N_A}$$

avec M , la masse molaire moyenne d'un désoxyribonucléoside monophosphate ; L , le nombre de paires de bases d'une molécule d'ADN mitochondrial ; n , le nombre de copies d'ADN mitochondrial par cellule et N_A , le nombre d'Avogadro. La masse d'ADN mitochondrial par cellule était constante pour les différents clones. Cela suggérait que le contrôle de la réplication de l'ADN mitochondrial maintient la constance de ce paramètre dans la cellule.

Question D2 :

Peu de candidats ont su définir correctement le rôle des enzymes et en déduire qu'elles permettaient de catalyser la synthèse de désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP) à partir de ribonucléotides importés du cytoplasme. Il était alors possible de relier les mutations des gènes de la PEO et de la MNGIE à des altérations du génome mitochondrial par l'intermédiaire d'une dérégulation de la quantité de dNTP dans la mitochondrie.

Partie E

Cet exercice quelque peu original dans sa forme faisait appel à des connaissances classiques de physiologie cardiaque et nécessitait un bon sens de l'observation. Il ne présentait pas de difficulté majeure.

Question E1 :

L'analyse de l'électrocardiogramme s'est révélée décevante. Peu de candidats sont capables de nommer les différentes ondes et de donner leur signification en termes d'électrophysiologie. Ils n'ont généralement pas remarqué que le rythme des ondes P, bien que régulier, était découplé de celui des ondes QRST. Cela indiquait une absence totale de conduction auriculo-ventriculaire. Le pouls périphérique correspondant à la fréquence des contractions ventriculaires, il fallait utiliser la fréquence des ondes QRS pour estimer la fréquence cardiaque. Ce calcul simple a posé des problèmes à de trop nombreux candidats.

Question E3 :

De même, peu de candidats ont su déterminer la fréquence maximale d'émission des ultrasons par la sonde. Ils n'ont en particulier pas compris qu'une nouvelle impulsion ultrasonore ne devait pas être émise avant que la précédente ne soit revenue à la sonde. Cette contrainte déterminait une fréquence maximale $f = c/2P$ avec P, profondeur du thorax et c, célérité des ondes, soit 3000 Hz.

Questions E4 à E10 :

L'analyse échocardiographique a été globalement bien traitée. Même les questions les plus difficiles ont été résolues par certains candidats. Ainsi, le ressaut CD/C'D' (réouverture partielle des valvules mitrales lors de la contraction auriculaire) et le délai RF (phase de contraction isovolumétrique du ventricule gauche) ont parfois été correctement interprétés. Paradoxalement, des applications numériques simples permettant d'estimer le volume ventriculaire gauche et le débit cardiaque ont posé plus de problèmes aux candidats.

En conclusion, les candidats ont fait un effort, par rapport aux années précédentes, pour bien décrire les résultats des expériences proposées, avant de tenter, plus ou moins efficacement, de les interpréter. Cependant, plusieurs candidats ont encore cherché à analyser des différences manifestement peu significatives. On peut aussi attendre une meilleure justification des réponses et des résultats de calculs présentés avec des unités correctes.