

# EPREUVE ECRITE DE BIOLOGIE

ENS : PARIS LYON CACHAN

**Coefficients : PARIS**      Option Biologie : 7 / Option Géologie : 4

**LYON**      Option Biologie : 6 / Option Sciences de la terre : 4

**CACHAN**      8

**MEMBRES DE JURYS : D. BUSTI, N. CAUDRON, A. CORBIN, C. DUBACQ, M.-H. KRYSZKE, I. NEGRUTIU, G. PEYROCHE, B. SCHNEIDER**

L'épreuve comportait un sujet de synthèse de 1 h 30 et deux sujets avec documents d'une durée conseillée de 2 h 15 chacun, reliés par une thématique commune : les axes de polarité des organismes.

Comme chaque année, la gestion du temps constituait une difficulté majeure. Les candidats n'abordant qu'une seule partie du sujet avec documents ont été fortement désavantagés. De même, le barème valorisait fortement les sujets de synthèse complets, structurés et correctement illustrés par rapport aux plans détaillés fréquemment rencontrés. Réitérons, à ce sujet, quelques conseils utiles.

De façon à aborder un maximum de questions, il est recommandé aux candidats de rédiger des réponses adaptées et concises, et la concision des réponses ne peut être obtenue que par la précision des termes employés. Par exemple, les termes "contrôler", "réguler", "agir sur", "intervenir dans" n'ont pas la même valeur informative que "inhiber" ou "activer". Par ailleurs, lorsqu'ils développent un exemple pertinent, les candidats doivent éviter de perdre un temps précieux à exposer toutes leurs connaissances et doivent se limiter aux aspects illustrant leur propos. De longs développements peuvent souvent être remplacés par des illustrations, qu'ils ne doivent pas paraphraser. De plus, ces illustrations ne doivent pas avoir une fonction purement décorative, mais elles doivent privilégier la lisibilité, la clarté et l'informativité. Lors de l'analyse de résultats, il ne sert à rien de paraphraser un tableau de données, mais il faut faire ressortir les données significatives, avant de les interpréter. Enfin, lorsqu'un calcul est demandé, il doit d'abord être effectué en expression littérale, avant de donner lieu à une application numérique.

Tout sujet comporte des questions relativement faciles, d'autres plus ardues. Il était bien sûr

utile de chercher dans un premier temps à "engranger" des points sur les parties les plus faciles, mais on ne peut espérer figurer parmi les meilleurs sans se confronter aux parties plus difficiles. Par ailleurs, les candidats qui cherchent seulement à "grappiller" des points sans entrer dans le fond des sujets proposés sont pénalisés.

## Sujet de synthèse

D'une manière générale, le sujet de synthèse n'a pas été traité suffisamment en profondeur. Un temps de réflexion et de préparation était nécessaire dans la mesure où cette partie faisait appel à des connaissances empruntées à différents cours et travaux pratiques de biologie animale ou végétale, dont il fallait effectuer la synthèse et qu'il fallait présenter dans l'optique du sujet.

En introduction, la définition des termes du sujet et une délimitation du sujet étaient requises. Ainsi, le devoir devait être construit à partir d'exemples empruntés aux règnes animal et végétal. Les organismes unicellulaires pouvaient être mentionnés en introduction ou en conclusion.

Si des indications de plan étaient fournies concernant la mise en place des axes de polarité, leur déterminisme et leur intérêt évolutif, une difficulté majeure consistait à définir les axes de polarité et les symétries qu'ils confèrent aux organismes, et peu de candidats l'ont fait correctement. Une des erreurs les plus fréquentes a été la confusion entre axe et plan de symétrie, voire entre axe de symétrie et polarité. C'est pourquoi, il était judicieux de classer, dans une première partie, les organismes en fonction du nombre d'axes de polarité : un axe de polarité (axe apico-basal chez les plantes, axe oral-aboral chez les Cnidaires et les Echinodermes) correspondant à une symétrie axiale, deux axes (axes antéro-postérieur et dorso-ventral chez la plupart des Triploblastiques) correspond à une symétrie bilatérale, et trois axes (axes antéro-postérieur, dorso-ventral et droite-gauche chez les mollusques Gastéropodes) correspondant à l'absence de symétrie. Autre exemple d'erreur classique, la symétrie du lombric (de même que celle de l'anguille) n'est pas axiale mais bilatérale. Enfin, la définition des axes de polarité chez les végétaux a été très peu abordée, de même que l'existence d'axes de polarité secondaires liés aux ramifications des tiges et des racines ou aux expansions du corps des animaux (membres, ailes).

Concernant la mise en place des axes de polarité au cours du développement, deux modèles étaient attendus : angiosperme et amphibien, conformément au programme (qui n'incluait pas le contrôle génétique). Lorsque le contrôle génétique a été abordé, cela a été très souvent de façon maladroite : des candidats ont confondu le modèle de la drosophile et celui des amphibiens, en décrivant par exemple les mutants *bicoid* et *nanos* chez ces derniers. Dans cette sous-partie, une large part du barème était attribuée à l'approche expérimentale. Trop peu de candidats se sont basés sur les expériences de Spemann et Mangold démontrant l'induction du mésoderme par l'endoderme, ou sur les expériences de greffe d'un centre de Nieuwkoop sur la face ventrale d'un embryon. Par ailleurs, peu d'entre eux ont insisté sur le fait que, chez les Amphibiens, l'axe antéro-postérieur se met en place en premier. Enfin, certains ont considéré que le développement embryonnaire est contrôlé uniquement par les hormones, voire même par l'innervation !

Souvent, les candidats ont structuré leur exposé de l'évolution des axes de polarité autour de la distinction animal/végétal, plutôt que de faire ressortir les points communs en relation avec le milieu et/ou le mode de vie, si bien que l'avantage adaptatif n'a pas été mis en évidence. De plus, les illustrations de cette partie ont souvent fait défaut, conduisant à un plan déséquilibré.

## Partie A – Sujet avec documents

Cette partie, accessible, a été abordée par pratiquement tous les candidats. Cependant, la réflexion n'a pas été assez poussée et de nombreuses subtilités ne transparaissaient pas dans les interprétations, notamment en ce qui concerne l'analyse des mutants. Comme indiqué dans l'énoncé, un mutant portait le nom du gène qu'il affectait. Par exemple, le mutant *stm* correspondait à une mutation du gène *STM*. Lors de l'analyse des mutants, étaient attendues (1) une description concise de leur phénotype et (2) une interprétation sur la fonction du gène correspondant, notamment en formulant des hypothèses pertinentes, en accord avec les résultats expérimentaux. Une telle démarche aurait évité un certain nombre de confusions et de contradictions.

### Question préliminaire

Beaucoup de candidats ne savaient pas qu'*Arabidopsis thaliana* appartient à la famille des Brassicacées et qu'elle constitue un modèle de génétique moléculaire du développement des plantes. Un candidat a même classé *Arabidopsis thaliana* dans les champignons Ascomycètes, et un autre dans les "cruciformes" !

### Question A-1

Cette question, largement abordée, a donné lieu à des erreurs d'interprétation récurrentes. En A-1.1.d, beaucoup de candidats n'ont pas compris que le produit du gène *STM* inhibe l'expression du gène *ANT* dans la zone intercotylédonaire, ou ne l'ont pas justifié. En A-1.2.b, certains ont pensé que les mutants *gurke*, *fackel*, *monopteros* et *gnom* correspondaient à diverses mutations des gènes *STM* ou *ANT*, alors que d'autres ont recherché des interactions entre les gènes *GURKE*, *FACKEL*, *MONOPTEROS* et *GNOM*, en l'absence de tout argument expérimental.

### Question A-2

Cette question a été la mieux traitée. Quelques erreurs sont toutefois à signaler. En A-2.1.c, peu de candidats ont justifié la limite entre zone centrale et zone périphérique ( $0,25 \cdot R_0$ ) et beaucoup ont oublié de diviser le diamètre de la base du méristème (52  $\mu\text{m}$ ) par 2 dans le calcul de cette limite. En A-2.2.a, peu d'entre eux ont précisé que les cellules de la couche L2 restaient dans cette couche, et que certaines, dans la zone centrale, permettaient de régénérer les cellules souches.

### Question A-3.1

La difficulté était d'abord de formuler des hypothèses quant à la fonction des gènes *CLV1*, *CLV3* et *WUS* à partir de l'analyse des mutants correspondants, puis de préciser la fonction de *CLV3* à partir des mesures d'index mitotique réalisées sur des méristèmes de plantes mutantes *clv3*.

L'inactivation de *CLV1* et *CLV3* conduisant à une augmentation de taille des méristèmes, on pouvait proposer qu'ils agissent soit en inhibant la prolifération des cellules méristématiques, soit en activant leur différenciation. En outre, le gène *WUS* était indispensable au maintien de l'activité du méristème apical caulinaire (MAC) puisque les cellules produites au centre du MAC d'une plante *wus* n'étaient pas capables d'initier la formation de primordiums de feuilles.

Les questions A-3.1.d et A-3.1.e ont été décevantes tant pour l'analyse des résultats expérimentaux que pour les interprétations. Ainsi, l'augmentation de l'index mitotique dans le domaine D du mutant *clv3* (5,0 % contre 4,8 % chez la plante sauvage) n'était pas significative au vu des marges d'erreur standards, mais on observait en revanche une diminution de cet index dans le domaine B (4,3 % à 1,8 %). Ce résultat permettait d'écarter l'hypothèse selon laquelle *CLV3*

inhibe la prolifération des cellules méristématiques et confortait l'idée qu'il active leur différenciation.

Le calcul du nombre de cellules L1 dans les zones centrale et périphérique des MAC de plantes sauvages et de plantes mutantes *clv3* a presque toujours été faux car les candidats n'ont pas vu que les mesures avaient été faites sur 50 méristèmes et surtout que la limite entre zone centrale et zone périphérique, définie par les valeurs d'index mitotique, se situait entre les domaines B et C chez le mutant *clv3*. Ainsi, l'inactivation de *CLV3* s'accompagnait d'un élargissement de la zone centrale, alors que la zone périphérique augmentait peu. On pouvait donc proposer que *CLV3* active la différenciation des cellules de la zone centrale et leur transition vers la zone périphérique et les primordiums de feuille.

### Questions A-3.2, A-3.3 et A-3.4

Ces questions avaient pour but d'étudier les interactions entre *WUS*, *CLV1* et *CLV3*, et les domaines d'expression de ces gènes au sein du MAC sauvage. Si la description des domaines d'expression n'a globalement pas posé de problème, l'effet activateur ou inhibiteur du produit d'un gène sur l'activité d'un autre gène n'a pas toujours été précisé, si bien que peu de candidats sont parvenus à replacer ces interactions (notamment entre *CLV1* et *CLV3*) au sein du MAC.

Ainsi, chez les mutants *clv1* et *clv3* (Question A-3.2.c), l'extension du domaine d'expression de *WUS* aux cellules de la couche L2 montrait que les protéines *CLV1* et *CLV3* inhibent *WUS*. L'absence d'expression de *WUS* dans les MAC arrêtés des plantes transgéniques P<sub>35S</sub>-*CLV3* (Document A.8.B), alors que les ARNm de *CLV3* sont exprimés à un taux élevé au sein du MAC et des primordiums de feuille (Document A.8.A), conduisait à la même conclusion.

Par ailleurs, l'absence d'effet du transgène P<sub>35S</sub>-*CLV3* dans le mutant *clv1* (Question A-3.3.a) indiquait que *CLV3* et *CLV1* interviennent dans la même voie de signalisation, l'activité de *CLV3* nécessitant un gène *CLV1* fonctionnel. De plus, les homologies de séquence entre *CLV1* et des récepteurs membranaires et la localisation extracellulaire de *CLV3* (Question A-3.3.c), suggéraient que *CLV3* soit le ligand de *CLV1*. On pouvait ensuite proposer que cette interaction active le domaine kinase de *CLV3* et induit une phosphorylation de protéines cibles entraînant une inhibition de l'expression de *WUS*.

Enfin, le remplacement des feuilles par des masses de cellules méristématiques chez les plantes transgéniques P<sub>ANT</sub>-*WUS* (Question A-3.4.a, Document A.10.A), montrait l'implication de *WUS* dans la spécification des cellules méristématiques. L'expression des ARNm de *CLV3* dans les assises superficielles du MAC et dans les masses de cellules méristématiques (document A.10.B) indiquait alors que le produit du gène *WUS* induit l'expression de *CLV3*.

L'ensemble de ces données permettait de mettre en lumière la boucle de régulation contrôlant la taille du MAC : l'expression de *WUS* dans les cellules L3 de la zone centrale induit l'expression de *CLV3* par les cellules du haut de cette zone. Ensuite, l'interaction de la protéine *CLV3* avec *CLV1* active une voie de signalisation réprimant *WUS* dans les cellules adjacentes, ce qui restreint son domaine d'expression à la base de la zone centrale.

### Partie B – Sujet avec documents

Cette partie, plus ardue, n'a pas été abordée par certains candidats. Beaucoup ont rapidement abandonné l'analyse de ce sujet. Il s'est pourtant révélé très discriminant, et les candidats ayant persévéré avec méthode ont été récompensés. Les trois sous-parties étaient indépendantes.

## Question B-1

Cette question analysait le "crible de Heidelberg", dont la mise au point et la mise en œuvre ont valu le prix Nobel de physiologie à C. Nüsslein-Volhard et E. Wieschaus.

Les questions B-1.a à B-1.d proposaient le calcul des fréquences théoriques des génotypes et des phénotypes à l'issue des différents croisements. Elles nécessitaient un travail méthodique et rigoureux. Souvent bien traitées, elles ont toutefois donné lieu à deux erreurs fréquentes. Certains n'ont pas compris que les homozygotes ( $2B\ Cy^+ / 2B\ Cy^+$ ), qui meurent au cours du développement, ne pouvaient pas être comptabilisés dans les résultats de croisement observés chez l'adulte. D'autres n'ont pas vu que les trois croisements possibles à la question B-1.d n'étaient pas équiprobables. Les candidats ayant construit un échiquier de croisements n'ont généralement pas rencontré ce problème.

Dans les questions B-1.e à B-1.g, il était demandé d'analyser le principe du crible et d'interpréter les résultats observés. Rares sont les candidats qui ont compris que les drosophiles (YR - AD) possèdent à l'état homozygote un chromosome 2 du mâle fondateur de la lignée, ayant subi la mutagenèse chimique. L'absence de telles drosophiles adultes dans un flacon indiquait la survenue d'une mutation récessive et létale au cours du développement (question B-1.e). A peine plus nombreux sont ceux qui ont vu que, l'EMS induisant des mutations sur un seul brin d'ADN, les F1 mutants sont des mosaïques pouvant donner naissance à des F2 sauvages (question B-1.g).

## Question B-2

Cette question décrivait la méthodologie d'obtention de mutations "clonales" ne s'exprimant, à l'état homozygote, que dans certaines cellules de l'organisme. Elle a été correctement réussie par une bonne proportion des candidats qui l'ont abordée. Certains n'ont pas compris que le système employé permet d'induire des recombinaisons homologues entre chromatides des chromosomes 2 appariés au moment de la mitose. Le schéma de la question B-2.c ne pouvait être réussi qu'en représentant chaque chromatide. Peu de candidats ont vu que la GFP permet de repérer les cellules mutantes homozygotes, qui sont les seules à ne pas l'exprimer.

## Question B-3

Cette dernière partie montrait comment l'utilisation d'une mutation "clonale" du gène Delta avait permis d'élucider le mécanisme initiant l'établissement de l'axe antéro-postérieur chez la drosophile. Elle nécessitait un investissement de temps pour comprendre le système, que peu de candidats ont consenti.

La question B-3.1 avait pour but de tester la compréhension du système par les candidats et leur capacité à synthétiser les informations. Elle ne posait pas de problème particulier. La question B-3.2, assez subtile, nécessitait d'une part une analyse approfondie du document B.1 et, d'autre part, une confrontation permanente des interprétations portant sur la morphologie des kystes avec les données (en particulier moléculaires) de l'énoncé sur les mécanismes de différenciation des différents types cellulaires mis en jeu. L'analyse des parties B et C de la figure a été très problématique pour les candidats. Le kyste représenté était double dans la mesure où il contenait un

follicule postérieur *Delta*<sup>-</sup> (car GFP<sup>-</sup>), séparé d'un follicule antérieur *Delta*<sup>+</sup> par une double assise de cellules folliculaires. Paradoxalement, l'ovocyte du follicule *Delta*<sup>+</sup> était mal positionné, contrairement à celui du kyste *Delta*<sup>-</sup>. Enfin, on pouvait remarquer l'absence de cellule polaire au niveau du follicule *Delta*<sup>-</sup>. Ces anomalies pouvaient être interprétées comme un défaut de formation de la tige séparant normalement deux follicules successifs. On pouvait en déduire que *Delta*, responsable de la différenciation des cellules polaires et indirectement de celle des cellules de tige, ne joue ce rôle qu'au pôle antérieur du follicule, et que son action contrôle aussi le positionnement postérieur de l'ovocyte du follicule plus antérieur, positionnement impliqué dans l'établissement de l'axe antéro-postérieur. Les parties D et E de la figure, qui confirmaient cette interprétation par des données plus directes, a permis à quelques candidats n'ayant pas analysé correctement la partie B de la figure d'aboutir à la bonne conclusion. Les dernières parties de la figure B.1 montraient que l'absence d'expression de *Delta* dans un follicule conduit à l'absence d'établissement du gradient de DE-cadhérine et de protrusion de l'ovocyte dans le follicule *Delta*<sup>+</sup> qui lui est antérieur.

On pouvait déduire de ces expériences un modèle de cascade d'induction permettant au follicule le plus postérieur du germarium d'induire l'asymétrie antéro-postérieure du follicule qui le suit et, de proche en proche, d'orienter l'axe antéro-postérieur des ovocytes parallèlement à l'axe antéro-postérieur de l'ovariole. *Delta* induit la différenciation des cellules polaires antérieures, qui produisent Unpaired et induisent la différenciation des cellules de tige. Ces dernières induiraient la formation du gradient de DE-cadhérine, responsable du positionnement de l'ovocyte. Selon ce modèle, le premier ovocyte ne peut être correctement orienté.