

ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOLOGIE

ENS : PARIS LYON CACHAN

Durée : 6 heures

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, JN. VOLFF, M. GARCIA, P. RIALLAND-LEFEVRE, G. SCHLECHT-LOUF, S. LE CROM, P. PLA

L'épreuve écrite de biologie comportait un sujet de synthèse et deux exercices indépendants dont le thème commun était les changements de taille et de forme des cellules au cours du développement.

Sujet de synthèse : Au cours du développement et de la croissance, les cellules des organismes pluricellulaires sont capables de changer de taille et de forme. *Vous illustrerez ces propos, montrerez l'importance fonctionnelle de ces processus et développerez quelques mécanismes à l'origine des changements de taille et de forme.*

Ce sujet demandait aux candidats de mobiliser des connaissances dispersées dans le programme de BCPST, de les rassembler et de les organiser en un ensemble cohérent.

L'introduction pouvait rappeler que les cellules sont délimitées par une membrane plasmique fluide et déformable, ce qui est un préalable à tout changement de taille et de forme. Par ailleurs, l'état pluricellulaire autorise l'existence de populations de cellules différentes des autres, morphologiquement et fonctionnellement au sein d'un même organisme. Les cellules souches (et le zygote) ont souvent une forme non spécifique, ce qui montre la nécessité de l'acquisition d'une forme particulière au cours de la différenciation, adaptée à une fonction. De même, les cellules (surtout animales) peuvent migrer au cours du développement, ce qui s'accompagne également de changements de forme temporaires.

Une première partie pouvait traiter de l'importance fonctionnelle des changements de forme lors de la différenciation et de la migration. Par exemple, la différenciation des dendrites et des axones des neurones est indispensable à leur fonction dans la communication cellulaire. La formation de microvillosités, chez les entérocytes par exemple, permet d'augmenter la surface des échanges. Chez les végétaux, les prolongements cellulaires constituant les poils absorbants ont la même fonction. Les grandissements cellulaires peuvent être isotropes (par exemple durant l'ovogénèse) ou différentiels, ce qui permet l'allongement d'un organe dans une direction privilégiée ou une courbure à l'origine de tropismes (phototropisme, gravitropisme). La différenciation des trachéides pour la formation du xylème est aussi un exemple où les changements de taille sont fonctionnellement importants. Enfin, les changements de forme peuvent accompagner des mouvements cellulaires : citons le flagelle des spermatozoïdes. La gastrulation des amphibiens permet d'illustrer diverses déformations liées au déplacement cellulaire : cellules en bouteille, intercalation radiaire, migration cellulaire sur le toit du blastocoele. La formation de la gouttière neurale lors de la neurulation permet de montrer les mouvements d'invagination. Toutes ces déformations sont indispensables à l'acquisition du plan d'organisation d'un triblastique épineurien. On peut aussi évoquer les changements de forme des cellules qui permettent de mettre en

mouvement le milieu externe à la cellule comme par exemple les cils des branchies des moules ou de l'épithélium trachéen. Dans un autre ordre d'idée, les candidats pouvaient aussi évoquer les changements de forme qui accompagnent la cytodivision lors des divisions cellulaires.

Une deuxième partie pouvait traiter des mécanismes des changements de taille et de forme avec pour objectif de bien souligner les différences entre cellules animales où le cytosquelette a un rôle prépondérant et les cellules végétales où c'est le jeu de forces entre la paroi et la vacuole (turgescence) qui joue le premier rôle. L'importance du cytosquelette peut être clairement mise en évidence dans le développement des cellules musculaires striées ou la spermiogénèse. Chez les animaux, la matrice extracellulaire sert de point d'appui aux cellules pour transformer leur déformation en mouvements. L'altération des interactions intégrine-fibronectine rend ainsi difficile la migration des cellules mésodermiques sur le toit du blastocoele lors de la gastrulation des amphibiens. On peut citer également la fusion cellulaire comme mécanisme particulier qui permet la formation de syncytia allongés lors de la différenciation des cellules musculaires striées squelettiques. Chez les végétaux, les mécanismes de la croissance cellulaire et son contrôle par l'auxine devaient être développés en détail.

La conclusion peut présenter une ouverture sur les dédifférenciations soit normales (cellules du péricycle), soit pathologiques (tumorales) des cellules ainsi que sur des migrations cellulaires lors de la physiologie normale (extravasation de cellules du système immunitaire) ou pathologique (métastases).

Dans l'ensemble, les candidats ont bien compris le sujet. Le jury s'est montré ouvert dans le choix des exemples pour illustrer les différentes notions. Même si la présentation de la diversité des formes cellulaires était attendue, on n'exigeait pas des candidats d'être exhaustifs mais de présenter des exemples pertinents et démonstratifs. Les exemples devaient être intégrés dans une réflexion générale et non pas simplement juxtaposés.

D'une manière générale, les introductions étaient médiocres, se contentant souvent de paraphraser l'intitulé du sujet. Une bonne introduction doit amener un certain nombre d'éléments concrets permettant de relever les enjeux et l'importance du sujet, de dégager une problématique scientifique et un « plan de travail ». Les conclusions étaient tout aussi globalement mauvaises et généralement sans ouverture.

La nature même du sujet devait amener les candidats à réaliser de très nombreux schémas. La quantité et la qualité des schémas réalisés ont été très inégales. Les schémas de gastrulation étaient généralement incomplets et médiocres. Les schémas de neurones étaient assez souvent caricaturaux avec une étoile pour spécifier corps cellulaire et dendrites et un large prolongement pour figurer l'axone. L'absence d'échelle pour la quasi-totalité des schémas était particulièrement « remarquable » dans un sujet sur la taille des cellules. Notons tout de même la présence fréquente de schémas fonctionnels corrects voire quelquefois très réussis de l'action de l'auxine dans la croissance cellulaire.

Certains candidats ont encore récité des « tranches du cours » pour remplir leur copie. On a ainsi vu des développements du xénopode présentés *in extenso*, ce qui n'était pas nécessaire.

Sujet avec documents :

Nous rappelons aux candidats qu'il est inutile d'introduire chacun des sujets avec documents ou de donner des titres aux sous-parties.

Partie A :

Cette partie permettait d'aborder différents aspects de la régénération des cellules musculaires à travers l'étude de deux modèles : les cellules musculaires dans la queue d'un amphibien (partie A1) et de la patte postérieure de la souris (partie A2).

La partie A1 avait pour but de découvrir le phénomène de régénération chez les amphibiens de l'organisme entier à l'échelle moléculaire. On commençait par observer que la régénération était fortement réduite au stade 46 du développement du xénope et que le gène *Msx1* était exprimé lors des phénomènes de régénération. Un système inductible permettait ensuite l'étude de plusieurs gènes sans perturber le développement global de l'embryon, couplé à un gène rapporteur facilitant le suivi *in vivo* des animaux transgéniques. Ces constructions montraient que l'activation constitutive de la voie BMP ou de *Msx1* levait le blocage de la régénération au stade 46. Plusieurs propositions pouvaient expliquer ce phénomène comme l'état de compétence des tissus, des niveaux d'expression des gènes différentiels dans le temps, ...

En se plaçant ensuite à l'échelle cellulaire, le candidat était amené à décrire une fibre musculaire (cellule pluri-nucléée striée selon les sarcomères) et à observer les phénomènes de cellularisation lors de la régénération (un seul noyau par cellule). La cinétique de ce phénomène était décrite précisément, le candidat devant faire attention à l'ordre temporel des images présentées. Cette cellularisation s'accompagnait de l'expression forte de *Msx1*. L'utilisation de morpholinos anti-sens contre *Msx1*, et eux seuls, permettait de réduire le nombre de myofibres actives et donc de faire un lien fonctionnel entre expression de *Msx1* et le phénomène de cellularisation à travers la formation d'agrégats cellulaires.

Enfin, l'échelle moléculaire montrait que la protéine *Msx1* était capable d'interagir avec la protéine histone H1. Qu'en outre *Msx1* se fixait sur la région CER de la zone promotrice de *MyoD* en coopération avec l'histone H1. Une dissection détaillée des domaines de la protéine *Msx1* montre que l'interaction entre *Msx1* et l'histone H1 est nécessaire mais pas suffisante pour la répression de *MyoD* et l'inhibition de la différenciation du muscle. Deux domaines de *Msx1* sont donc nécessaires pour sa fixation à l'ADN la région 105-139 qui permet la liaison au CER et l'homéodomaine qui se lie à l'ADN à l'aide de l'histone H1. Une partie de ces résultats étaient enfin confirmés par interférence ARN où on voyait que *Msx1* nécessite l'histone H1 pour inhiber la différenciation des cellules musculaires squelettiques.

Si cette partie a été globalement la plus traitée de tous les exercices, les candidats sont souvent pénalisés par une lecture trop rapide des énoncés et des légendes des figures aboutissant par exemple à donner un mauvais ordre temporel à la succession d'événements lors de la cellularisation ou à conclure prématurément à la question 15 que *Msx1* est indispensable à la cellularisation des cellules musculaires. Mais surtout la notion d'expérience contrôle et de témoin est très mal connue. La phrase « les témoins servent de contrôle » résume à elle seule l'analyse de ce type de questions dans un grand nombre de copies.

La partie A2 permettait de mettre en évidence le rôle de *Myf5* dans la régénération musculaire chez la souris adulte en comparant des souris sauvages et *Myf5*^{-/-}. Les expériences démontraient que les souris mutantes après lésion ont une régénération défectueuse avec moins de cellules musculaires en différenciation aboutissant à une densité en fibres musculaires plus faible, une matrice extracellulaire plus épaisse et des adipocytes plus nombreux. Les souris mutées ne contiennent pas

significativement moins de cellules satellites (exprimant Pax7) que les souris sauvages. Les défauts observés précédemment chez les souris mutées ne proviennent donc pas d'un nombre insuffisant de cellules satellites avant la lésion. Des marquages BrdU permettaient de mettre en évidence que la prolifération des cellules satellites *Myf5*^{-/-} est plus faible que celle des cellules satellites sauvages. *Myf5* favorise donc la prolifération des cellules satellites et assure ainsi qu'il y ait une quantité suffisante de cellules capables de participer à la régénération. La régénération fonctionne donc de manière très différente de celle observée dans la partie A1.

Par ailleurs, la population des cellules satellites Pax7⁺ se révèle être hétérogène car 10% environ de ces cellules n'expriment pas *Myf5* (ou plus précisément ici un gène rapporteur *LacZ* sous le contrôle du promoteur de *Myf5*). Ces cellules n'ont jamais exprimé *Myf5* au cours de leur développement comme le montrait l'expérience avec une forme inductible et « indélébile » de fluorescence YFP activée par le promoteur *Myf5* via le système Cre, qui était expliqué dans l'énoncé. Des expériences d'agrégats clonaux cellulaires montrent que des cellules Pax7⁺ n'exprimant pas initialement *Myf5* sont capables d'activer l'expression de ce gène lors de la prolifération. Cette activation dépendrait de divisions asymétriques où la position des deux cellules-filles par rapport à la lame basale entourant la fibre musculaire est importante (le détachement de la lame basale activerait *Myf5*).

Une fois de plus, de trop nombreux candidats ne savaient pas lire correctement un graphique scientifique et ont négligé les écart-types, ce qui les a menés à une réponse fautive à la question 28, où il n'y avait pas de différences significatives entre les souris sauvages et mutées pour le paramètre observé. La fin de la partie A2 à partir de la question 30 était clairement la partie la plus difficile du sujet et peu de candidats y ont gagné des points.

Partie B :

Cette partie commençait par une question de cours très classique sur les modalités de la double fécondation chez les Angiospermes, question qui a été bien traitée dans l'ensemble. Des confusions ont été commises par quelques candidats (entre ovule, sac embryonnaire et oosphère par exemple).

La partie B1 permettait de mettre en évidence un modèle original de guidage du tube pollinique. Ce modèle implique la protéine POP2 qui dégrade un acide aminé, le GABA. Le GABA stimule la croissance du tube pollinique jusqu'à une certaine concentration puis l'inhibe. Dans les organes reproducteurs femelles, un gradient de concentration de GABA est mis en place du stigmate à l'ovule, gradient qui est presque totalement aboli dans les organes où POP2 est non fonctionnel et où GABA est partout très abondant. Même dans cet environnement, les tubes polliniques sauvages peuvent se frayer un chemin vers l'ovule grâce à leur POP2 endogène qui dégrade localement « devant eux » le GABA.

Beaucoup de candidats ont compris partiellement le modèle mais n'ont pas réussi à l'expliquer totalement. Une partie des candidats a cru reconnaître une incompatibilité (sporophytique ou gamétophytique), faute d'avoir observé que les tubes polliniques ont une croissance normale dans les croisements entre mutants et sont seulement déficients pour le guidage. Nous conseillons aux candidats de lire attentivement les questions qui sont là pour les guider pas à pas à travers les données. Ainsi, des candidats ont traité la question 39 avec des réponses qui étaient demandées à la question 40 et sont passés à côté de ce sur quoi les rédacteurs du sujet voulaient attirer l'attention à la question 39 (le gradient de GABA dans les organes reproducteurs femelles).

La partie B2 avait pour objectif de comprendre comment la Phospholipase C (PLC) intervient dans la croissance du tube pollinique. On commençait par deux questions plus techniques pour évaluer les connaissances et l'imagination des candidats sur des approches technologiques du sujet à traiter. On suivait ensuite la localisation de la PLC depuis la plante entière jusqu'au tube pollinique où l'on pouvait voir que la PLC est située dans le cytoplasme de l'extrémité du tube mais aussi localisée à

la membrane apicale. Les expériences de photoblanchiment permettaient ensuite d'avoir une vue dynamique de la localisation de la PLC, avec une relocalisation rapide de la PLC dans le cytoplasme et homogène le long de la membrane latéral suggérant la mise en place d'un autre phénomène que la simple diffusion depuis la région apicale du tube pollinique. L'utilisation d'un mutant PLC1-H126A sans activité enzymatique met en évidence la dynamique du réseau d'actine. En regroupant toutes ces informations on peut proposer que la PLC1 présente sous forme de pool dans le cytoplasme est insérée dans la membrane du tube pollinique à son extrémité et sur les côtés. Lorsqu'elle se fixe elle désorganise les filaments d'actine permettant ainsi l'élongation.

Cette partie B2 était volontairement plus compliquée et faisait appel à des méthodes qui n'étaient pas forcément connues du candidat. Elle a donc été logiquement la moins bien traitée de tout le sujet mais a permis d'obtenir des interprétations pertinentes et montrant que quelques candidats savaient lire et interpréter des figures difficiles (photoblanchiment entre autre).

Références des articles utilisés pour construire les parties du sujet avec documents :

Partie A

Beck CW et al., *Dev Cell* **5**, 429 (2003)

Gayraud-Morel B et al., *Dev Biol* **312**, 13 (2007)

Hansol L et al., *Science* **304**, 1675 (2004)

Kuang S et al., *Cell* **129**, 999 (2007)

Kumar A et al., *PLoS Biology* **2**, e218 (2004)

Partie B

Dowd PE et al., *The Plant Cell* **18**, 1438 (2006)

Palanivelu R et al., *Cell* **114**, 47 (2003)