

SESSION 2009

**CONCOURS EXTERNE
DE RECRUTEMENT DE PROFESSEURS CERTIFIÉS
ET CONCOURS D'ACCÈS À LA LISTE D'APTITUDE**

Section : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

COMPOSITION SUR UN SUJET DE BIOLOGIE

Durée : 6 heures

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout matériel électronique est rigoureusement interdit.

Dans le cas où un(e) candidat(e) repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il (elle) le signale très lisiblement sur sa copie, propose la correction et poursuit l'épreuve en conséquence.

De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, il vous est demandé de la (ou les) mentionner explicitement.

NB : Hormis l'en-tête détachable, la copie que vous rendrez ne devra, conformément au principe d'anonymat, comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé comporte notamment la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de signer ou de l'identifier.

Tournez la page S.V.P.

Remarques importantes

1. Le sujet comporte 4 parties, 8 documents et un tableau à rendre avec votre copie. Les différentes parties sont indépendantes, mais certaines hypothèses formulées en réponse à la question 6 pourront être reprises dans la question 10.
2. Certaines figures pourront être jointes à la copie si le candidat considère que des annotations en surcharge constituent des éléments appréciables de réponse aux questions ; il devra alors les coller sur la copie.
3. Une durée conseillée est indiquée pour chaque partie.
4. La qualité de la rédaction, de l'orthographe et des schémas qui accompagnent les réponses sera prise en compte dans la notation.
5. Il n'est pas demandé d'introduction ni de conclusion générales mais seulement de répondre aux questions posées dans l'énoncé.
6. Précisions de vocabulaire : le terme « Plantae » correspond à la lignée verte (selon Lecointre & Le Guyader, 2003) et comprend les Glaucocystophyta, les Rhodophyta et les Chlorobionta - cf. document 5).

Structure, fonctions et évolution des plastes chez les Eucaryotes

Partie I - Étude structurale de la cellule Eucaryote photosynthétique.

Durée conseillée 45 minutes

Question 1 :

- Légendez le document 1 sur le tableau I à rendre impérativement avec la copie.

Question 2 :

- En vous référant au document 1 et à vos connaissances, décrivez sous forme d'un tableau, les organites présents dans toutes les cellules eucaryotes photosynthétiques et précisez leurs fonctions dans la cellule.

Partie II - Fonctions du chloroplaste

Durée conseillée 1 heure 30

Question 3 :

Chez *Chlamydomonas sp.* (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), comme chez tous les Eucaryotes autotrophes pour le carbone, la nutrition est assurée en partie par la photosynthèse.

- Proposez de manière synthétique deux protocoles expérimentaux réalisables dans une salle de travaux pratiques permettant de mettre en évidence le rôle des chloroplastes dans la photosynthèse, d'une part dans les processus photochimiques, d'autre part dans les processus biochimiques d'assimilation du carbone.

Question 4 :

Les expériences de Calvin (1952), non décrites ici, ont permis de suivre le devenir du carbone fixé lors de la photosynthèse (document 2). Un dispositif permet de contrôler le temps de mise en contact d'une suspension de chlorelles avec du CO₂ radioactif (= ¹⁴CO₂). Les chlorelles (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae) sont des algues unicellulaires proches de *Chlamydomonas*.

- Après avoir dégagé les informations pouvant être déduites des documents 2A à 2D, proposez un schéma de synthèse du fonctionnement d'un chloroplaste prenant en compte ces informations et vos connaissances.

Partie III - Diversité et origine des chloroplastes

Durée conseillée 1 heure

Question 5 :

La comparaison d'organismes photosynthétiques permet de formuler des hypothèses sur l'origine des plastes des cellules eucaryotes.

A - Légendez les documents 3A à 3D (directement sur le tableau I à rendre avec la copie)

B - En vous appuyant sur les documents 3 et 4 comparez les structures présentées.

Question 6 :

- En vous fondant uniquement sur les informations précédentes (ultrastructure des plastes et distribution des principaux pigments photosynthétiques) et en vous appuyant sur la phylogénie des Eucaryotes (document 5), quelles premières hypothèses pouvez-vous formuler sur l'origine des plastes dans les différentes lignées eucaryotes photosynthétiques?

Partie IV – Évolution de la cellule photosynthétique.

Durée conseillée 2 heures 30

La division des plastes est un mécanisme fondamental du développement et de la croissance des Eucaryotes photosynthétiques.

Les peptidoglycanes sont des macromolécules structurales que l'on trouve dans la paroi de toutes les Eubactéries. Ces molécules sont impliquées dans la division cellulaire : elles participent à la formation de la cloison cellulaire médiane qui isole les cellules filles au cours des divisions successives. Chez les bactéries, l'ampicilline est un antibiotique qui bloque la voie de synthèse des peptidoglycanes et empêche l'aboutissement de leur division.

Cyanophora paradoxa est un Glaucocystophyta (cf. document 5), algue eucaryote unicellulaire photoautotrophe obligatoire, dont le plaste est entouré d'une structure contenant des peptidoglycanes. Des cellules de *Cyanophora paradoxa* ont été mises en culture en présence d'ampicilline et on a observé la croissance de la colonie (document 6A).

Question 7 :

A - Analysez les expériences proposées sur le document 6A.

B - Quelles hypothèses pouvez-vous émettre pour expliquer l'action de l'ampicilline sur la croissance des Glaucocystophytes en culture? Quelle(s) expérience(s) complémentaire(s) serai(en)t nécessaire(s) pour tester ces hypothèses.

Le document 6B compare la taille des génomes et le nombre de gènes plastidiaux présents chez différents organismes.

C - Quelles informations peut-on tirer de ces données?

La protéine FtsZ et sa fonction chez les Eucaryotes.

La protéine FtsZ (pour '*Filamentous temperature sensitive*') découverte en analysant des mutants d'*Escherichia coli* (Eubacteria) est l'une des molécules impliquées dans la division cellulaire de cet organisme. Les monomères de la protéine FtsZ (40 kDa) peuvent s'auto-assembler en protofilaments (activité GTPase) puis former un anneau contractile (l'anneau Z) à l'origine de la constriction membranaire qui s'opère au niveau du septum séparant, lors de chaque division, les cellules filles d'*E. coli*.

Chez *Arabidopsis thaliana* (Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), deux séquences de transcrits (*FtsZ1* et *FtsZ2*) ont été identifiées à partir d'une banque d'ADNc nucléaire.

Les protéines correspondantes, *FtsZ1* et *FtsZ2*, présentent une séquence dont la région centrale est très conservée mais elles diffèrent par la longueur de leurs extrémités N-terminales : *FtsZ1* possède une séquence N-terminale beaucoup plus longue que celle de *FtsZ2*. A titre d'information, on notera également la présence d'un site de fixation au GTP dans les deux séquences.

Afin d'analyser les fonctionnalités biologiques de ces séquences, une série d'expériences a été réalisée (documents 7A, 7B et 7C) :

Question 8 :

A- Interprétez indépendamment les expériences 7A, 7B et 7C.

B- Quelles conclusions concernant le rôle des protéines FtsZ peut-on formuler à partir des résultats obtenus?

Évolution des protéines FtsZ chez les Eucaryotes :

Les recherches menées chez les Eucaryotes ont conduit à la mise en évidence de FtsZ chez différents taxons de plantes terrestres et d'algues. Tout comme chez *Arabidopsis thaliana*, certains d'entre eux (*Cucumis sativus*, *Physcomitrella patens*) présentent deux gènes qui ont pu être identifiés et également annotés *FtsZ1* et *FtsZ2*.

On notera que ce gène est absent de différents génomes Eucaryotes totalement séquencés : *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, des génomes de vertébrés, ainsi que des génomes mitochondriaux.

Une analyse phylogénétique réalisée selon une méthode dite de maximum de vraisemblance a été effectuée à partir d'un alignement de séquences des protéines FtsZ d'Eubactéria, d'Archaea et d'Eucaryota (cf. liste des taxons sur le document 8B). L'une des hypothèses phylogénétiques qui en résulte est présentée sous la forme d'un arbre des relations de parenté entre les différentes protéines FtsZ échantillonnées (document 8A).

Question 9 :

- En vous fondant sur l'analyse de la phylogénie proposée sur le document 8A, formulez des hypothèses sur l'évolution de ces gènes.

Question 10 :

- En vous appuyant sur les informations dégagées dans les parties III et IV, ainsi que sur vos connaissances, vous établirez une liste structurée d'arguments soutenant l'origine symbiotique des plastes eucaryotes.

Afin de compléter l'histoire évolutive du gène *FtsZ* (qui code pour la protéine FtsZ), des recherches exhaustives (Nogales et al., 1998; Gilson et al., 2001) ont été menées sur des bases de données de gènes (GeneBank). Ces auteurs ont pu montrer que la plupart des protéines FtsZ présentaient de faibles similarités de séquences avec différents gènes de la famille des tubulines, présents uniquement chez les Eucaryotes (quelques acides aminés sont conservés). En revanche, des similarités structurales très importantes ont pu être identifiées.

Question 11 :

- Après avoir présenté de façon concise les molécules de la famille des tubulines (vous pourrez vous appuyer sur des représentations schématiques) et précisé leurs principales fonctions biologiques, discutez, en quelques phrases, de l'importance que peuvent présenter ces travaux dans la compréhension de l'évolution de la cellule eucaryote.

Bibliographie :

- Berenguer & al., 1987, FEBS Letters, 224(2) : 401-405.
Bouck, 1965, The Journal Of Cell Biology, 26 : 523-537.
Calvin, 1962, Science, 135 (3507) : 879-889.
De Reviers, 2002, Biologie et Phylogénie des algues, Tome 1, Belin, 351 pp.
Erikson, 1995, Cell, 80: 367-370.
Erikson, 1997, Trends in Cell Biology, 7: 362-367.
Erikson, 2007, BioEssays, 29: 668-677.
Gilson & Beech, 2001, Research in Microbiology, 152: 3-10.
Keeling, 2004, American journal of botany, 91(10): 1481-1493.
Nogales & al., 1998, Nature Structural Biology, 5 (6) : 451-458.
Ohad, Siekevitz & Palade, 1967, The Journal Of Cell Biology, 35 : 521-552.
Osteryoung & al., 1995, Nature, 10: 1991-2004.
Osteryoung & al., 1998, The plant cell, 10: 1991-2004.
Robert & Roland, 1989, Organisation cellulaire (Biologie végétale), Tome 1, 265 pp.
Lecointre & Le Guyader, 2003, Classification phylogénétique du vivant, 559 pp.

NE RIEN ÉCRIRE DANS CE CADRE

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

Académie : _____ Session : _____

Concours : _____

Spécialité/option : _____ Repère de l'épreuve : _____

Intitulé de l'épreuve : _____

NOM : _____

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____ N° du candidat

(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

EBE SVT 1

Tableau I à rendre avec la copie - Légendes des documents 1 et 3.

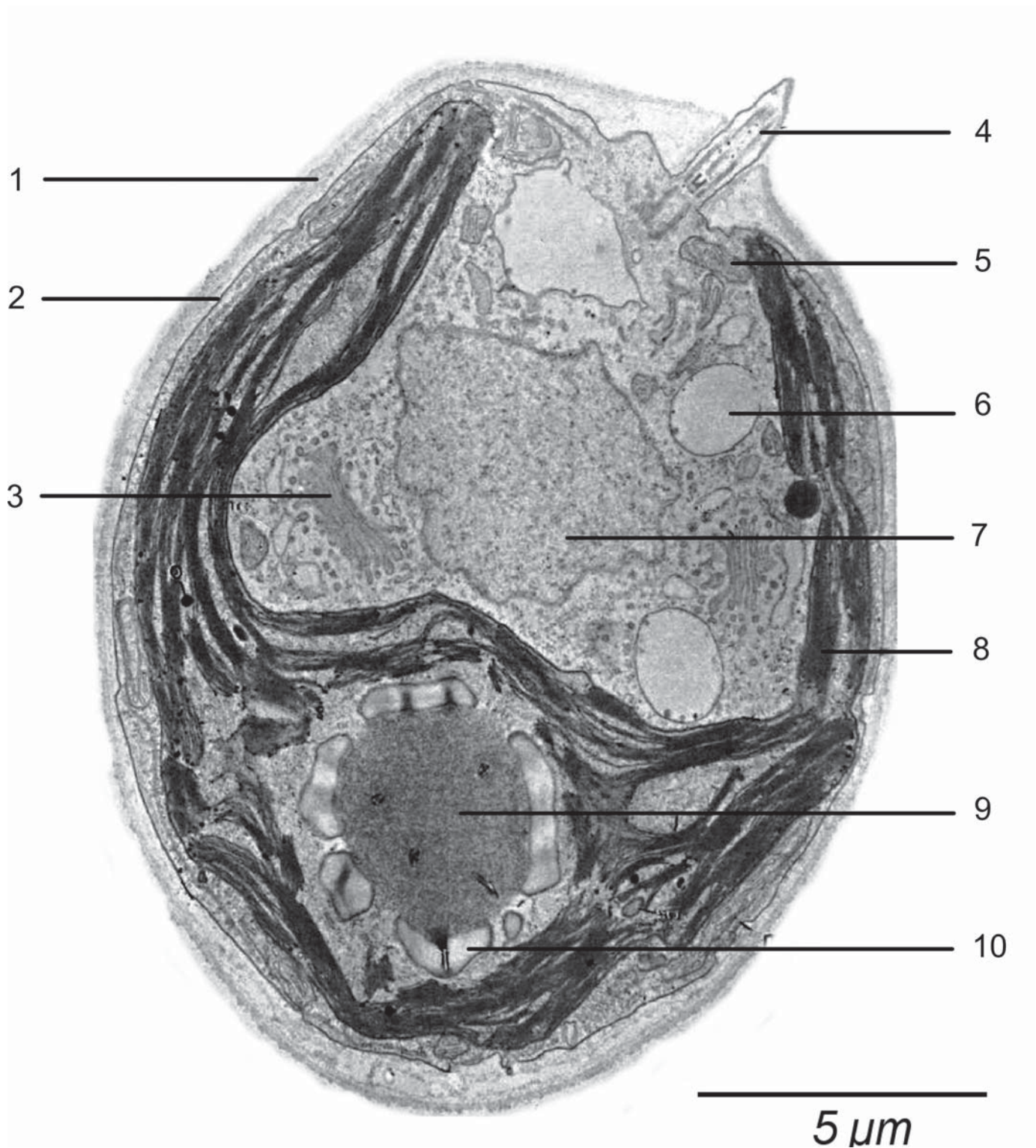
N° Doc.	N° légende	Texte de la légende
1	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	
	9	
	10	
3A	11	
	12	
	13	
	14	
	15	
3B	16	
	17	
	18	
	19	
	20	
	21	
3C	22	
	23	
	24	
	25	
	26	
3D	27	
	28	

©

DOCUMENT 1

Coupe de Chlamydomonas sp. (Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota)
 observée en microscopie électronique à transmission.

D'après Ohad, 1967

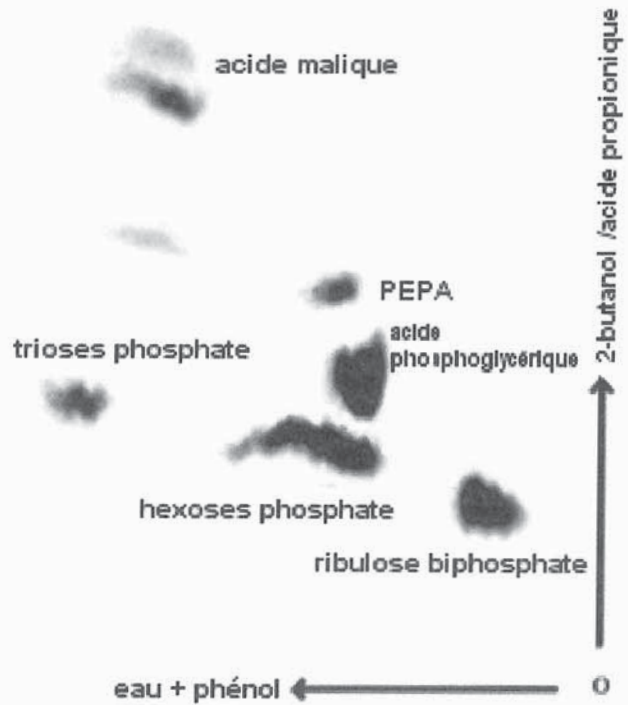


DOCUMENT 2
(d'après Calvin, 1962)

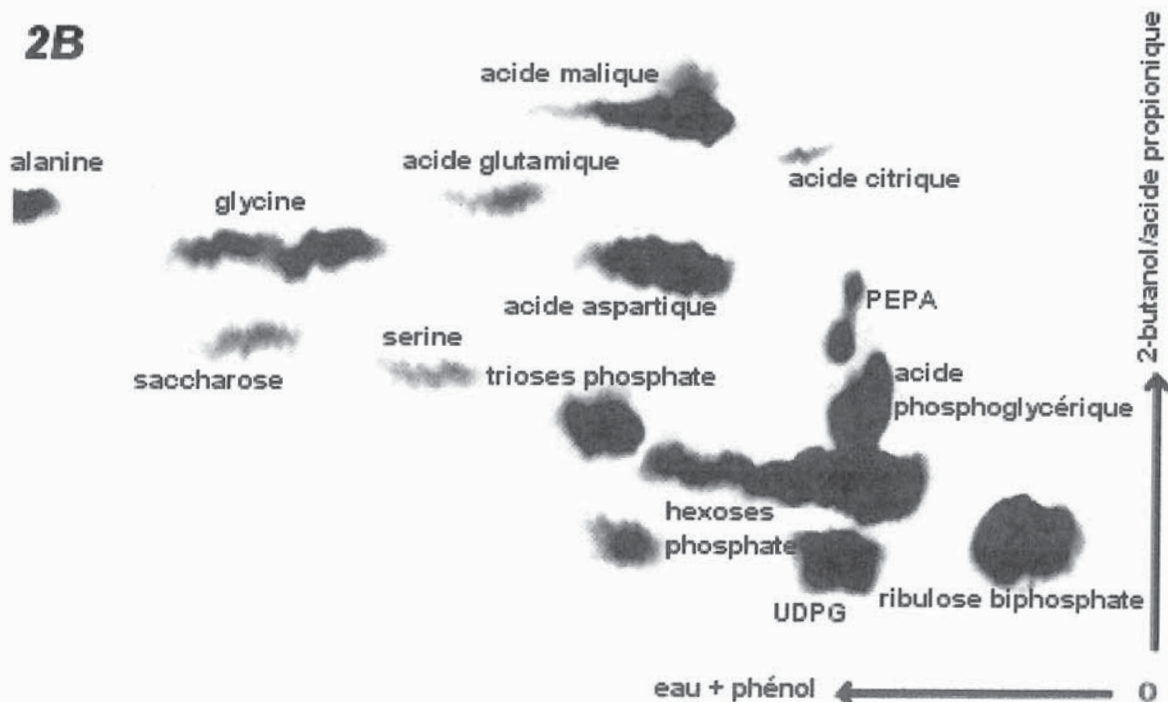
Une suspension de chlorelles éclairée est exposée à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$ pendant 5s (document 2A) ou 30s (document 2B). Les chlorelles sont immédiatement fixées par immersion dans une solution alcoolisée ce qui stoppe toute réaction enzymatique et permet l'extraction de leur contenu cellulaire. Des chromatographies bidirectionnelles de ce contenu ont été réalisées et les résultats analysés par autoradiographie. Pour chaque chromatogramme, l'origine 0 est située en bas à droite et le sens de migration est précisé. La nature des composés a été analysée ultérieurement par diverses méthodes biochimiques. On s'est également assuré que ces composés étaient bien présents *in vivo* et n'étaient pas le résultat d'une dégradation par les solvants. PEPA = phosphoenolpyruvate ; UDPG = uridinediphosphoglucose.

2A

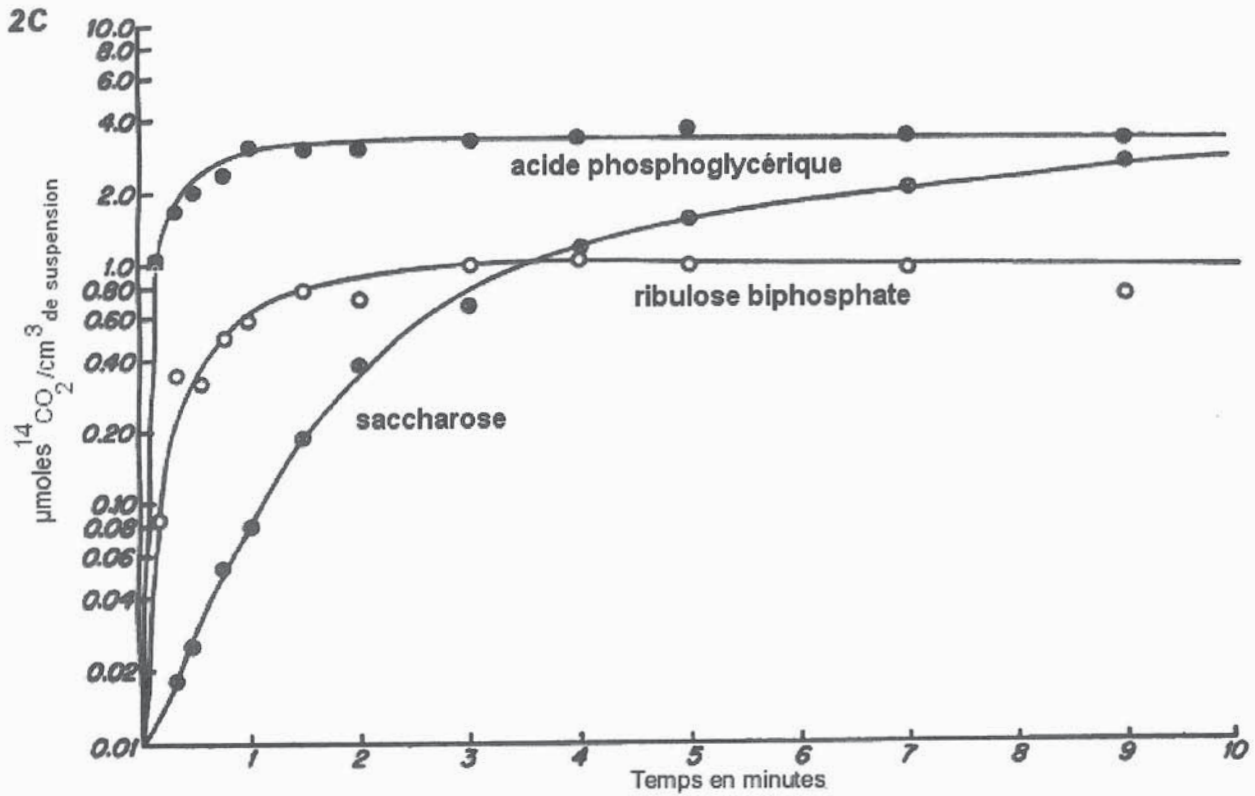
2A : exposition de la suspension de chlorelles au $^{14}\text{CO}_2$ pendant 5s. Si le temps est encore réduit (à 2s par exemple) l'acide phosphoglycérique devient le seul composé révélé.



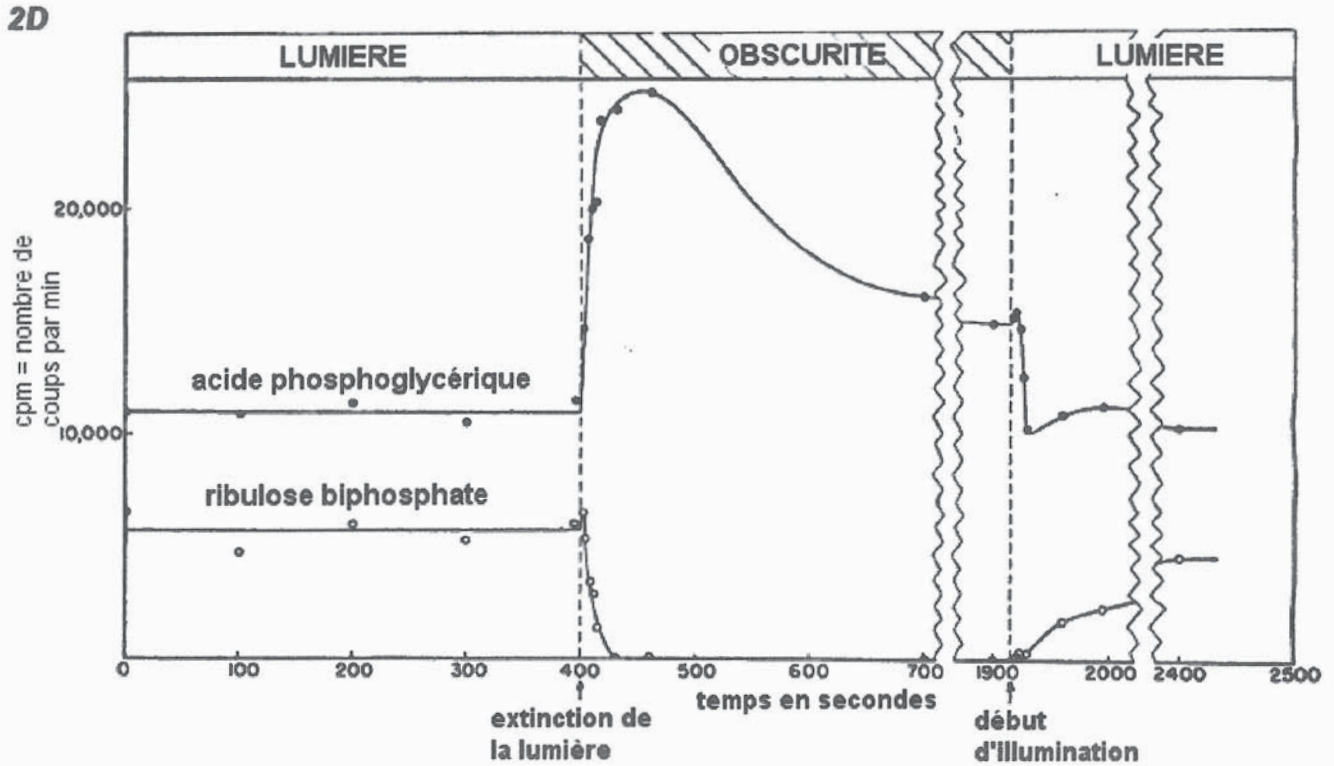
2B



2B : exposition de la suspension de chlorelles au $^{14}\text{CO}_2$ pendant 30s.

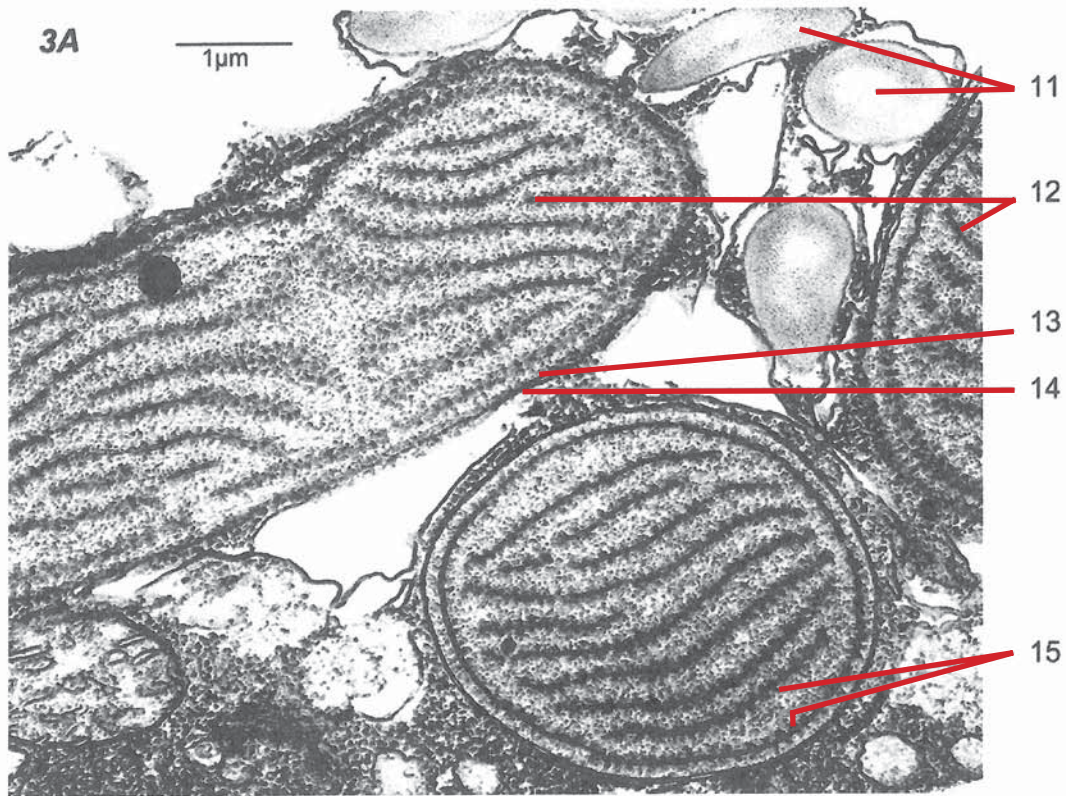


2C : mesure de la radioactivité incorporée dans l'acide phosphoglycérique, le ribulose biphosphate et le saccharose en fonction du temps à partir d'une suspension de chlorelles exposée à la lumière et soumise à une atmosphère enrichie en $^{14}\text{CO}_2$. L'atmosphère est renouvelée avec un débit suffisant pour que la concentration en $^{14}\text{CO}_2$ soit constante. Le temps 0 correspond au début de l'exposition au $^{14}\text{CO}_2$.

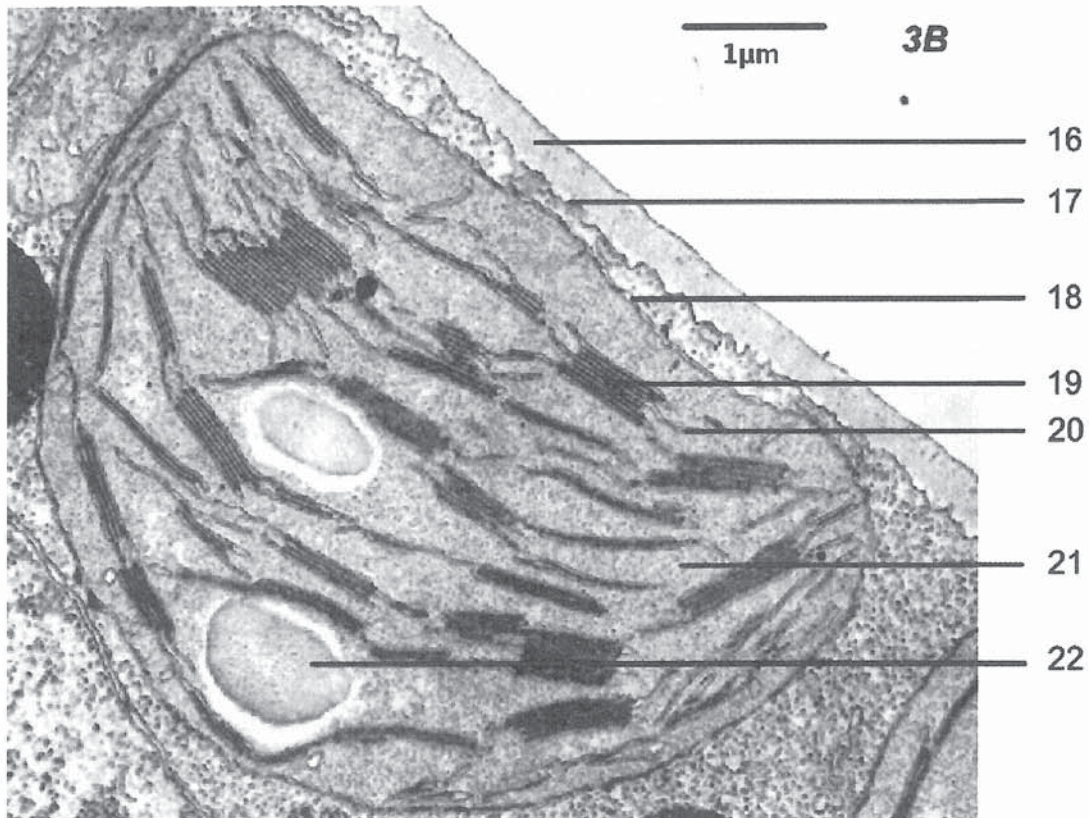


2D : mesure de la radioactivité (cpm) du ribulose biphosphate et de l'acide phosphoglycérique à partir d'une suspension de chlorelles soumise à un flux de $^{14}\text{CO}_2$ et à une alternance lumière/obscurité/lumière. Le temps 0 correspond au démarrage des mesures sur une suspension de chlorelles déjà exposée à la lumière et au $^{14}\text{CO}_2$ depuis au moins 5 minutes.

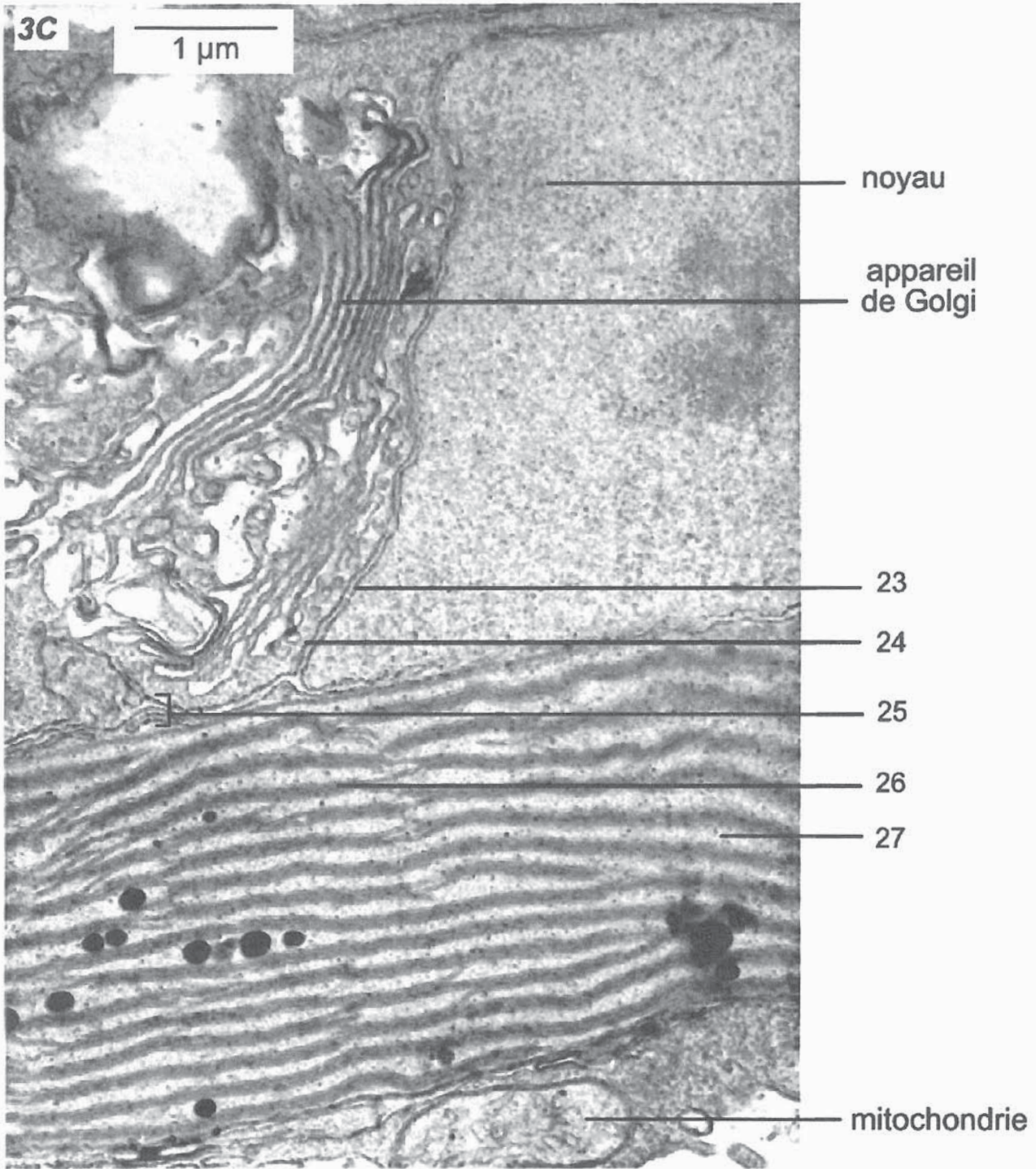
DOCUMENT 3



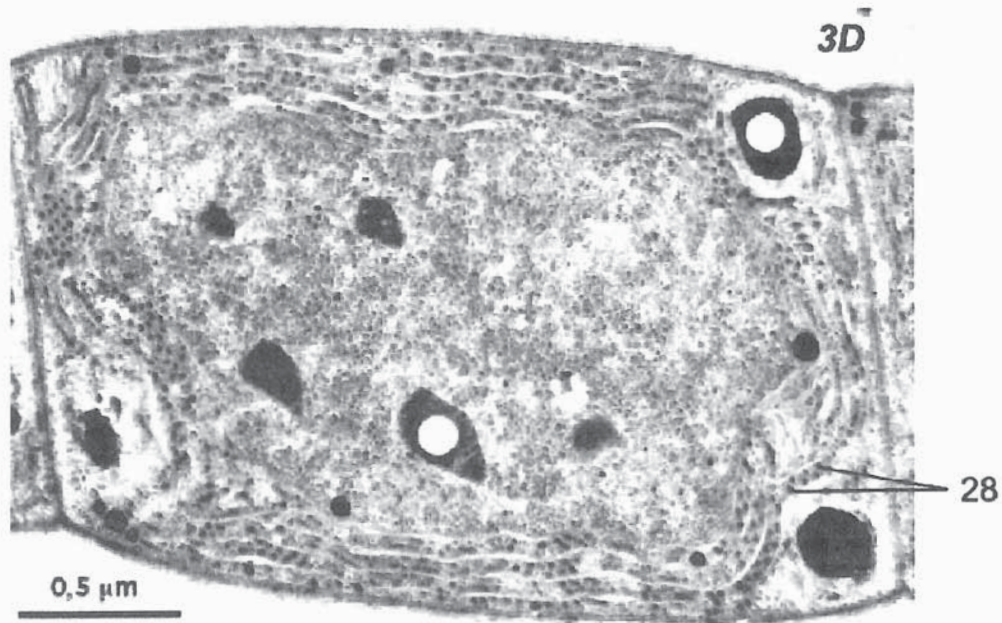
3A : chloroplastes de *Griffithsia* sp. (Rhodophyta, Plantae, Eucaryota) en microscopie électronique. D'après Curt Pueschel, Department of Biology, SUNY Binghamton, USA.



3B : chloroplastes d'épinard, *Spinacia oleacea* (Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota), en microscopie électronique. D'après Mike Clayton, Université du Wisconsin, USA.



3C : chloroplaste de *Chorda filum* (Phaeophyceae, Ochrophyta, Heteroconta, Eucaryota)
D'après Bouck, 1965.



3D : une cellule d'*Oscillatoria splendida* (Cyanobactéria, Eubacteria) en microscopie électronique.
D'après J.C. Thomas, laboratoire « Organismes Photosynthétiques et Environnement », ENS, modifié.

DOCUMENT 4

Équipement pigmentaire photosynthétique de quelques Eucaryotes et Eubactéries photosynthétiques.

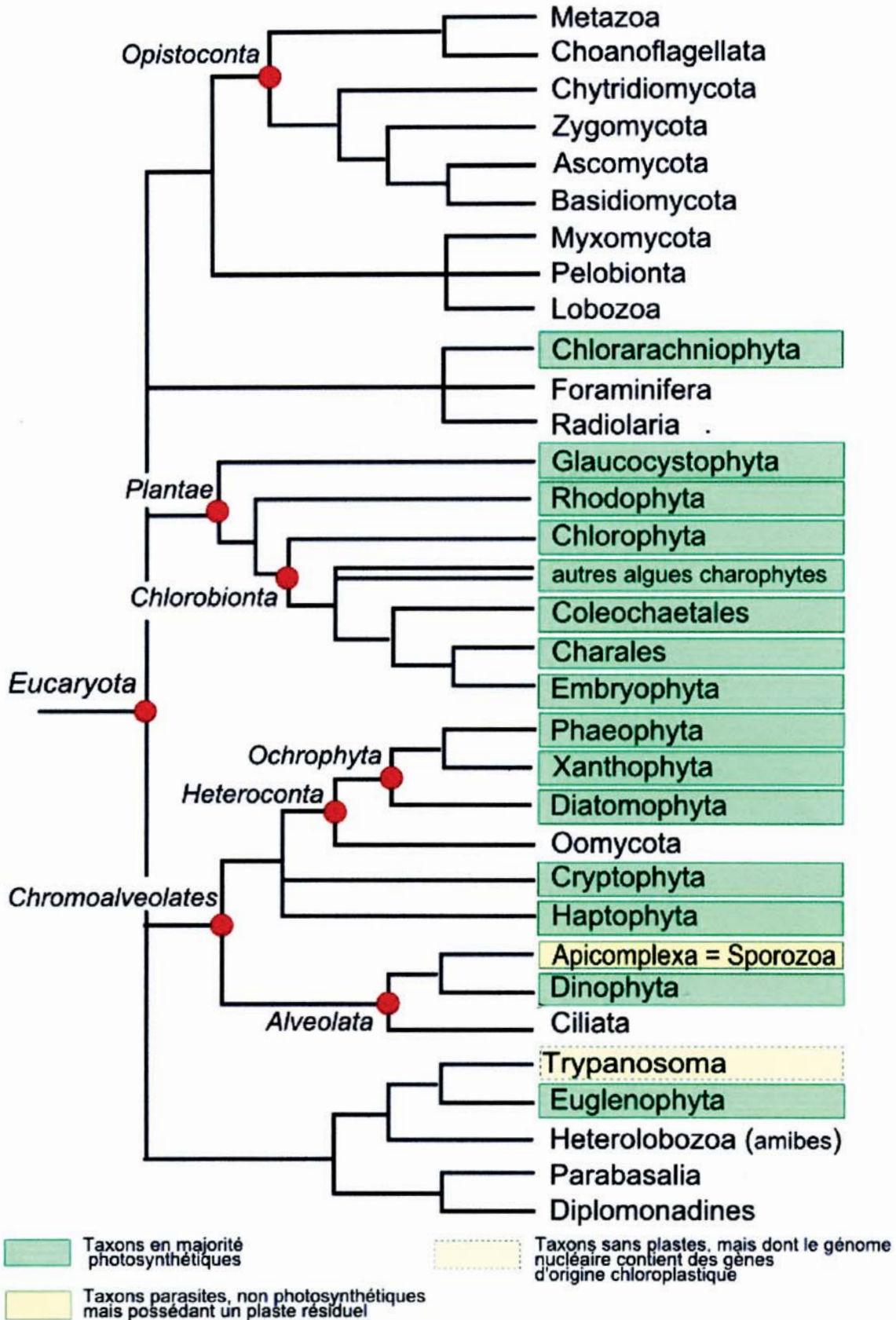
Taxons	Pigments impliqués dans la photosynthèse
Cyanobacteria	chlorophylle a (un groupe contient en plus de la chlorophylle b) phycocyanine allophycocyanine phycoérythrine caroténoïdes
Chlorobionta	chlorophylle a chlorophylle b caroténoïdes
Rhodophyta	chlorophylle a phycocyanine allophycocyanine phycoérythrine caroténoïdes
Fucophyceae	chlorophylle a chlorophylle c caroténoïdes (fucoxanthine)

Remarque : les Fucophyceae appartiennent au taxon des Phaeophyta, Ochrophyta (cf. document 5)

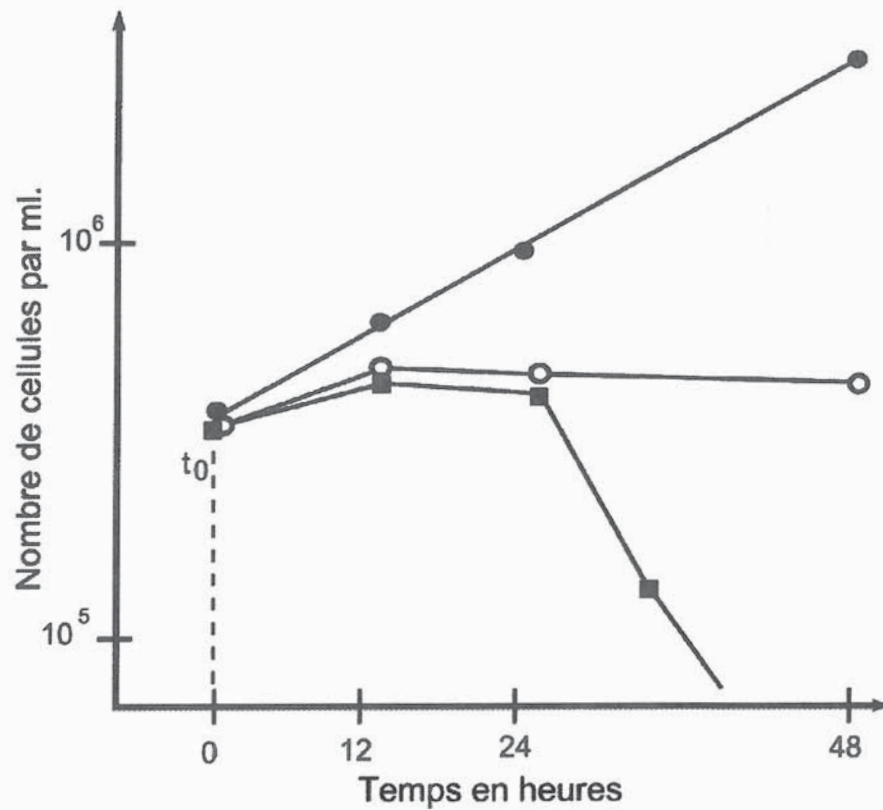
DOCUMENT 5

Phylogénie des Eucaryotes

D'après Lecointre et Le Guyader, 2003, et Keelin, 2004, modifiés



DOCUMENT 6



6A : une culture de *Cyanophora paradoxa* en phase logarithmique de croissance (cultivée à 26°C, avec une photopériode de 20 h de jour/4 h de nuit) est divisée en 3 sous-cultures. Au temps t_0 un traitement différent est appliqué à chaque sous-culture :

- culture témoin non traitée à l'ampicilline
- culture maintenue à l'obscurité et en absence d'ampicilline
- culture mise en présence d'ampicilline (50 µg/ml) à t_0 et maintenue à la lumière

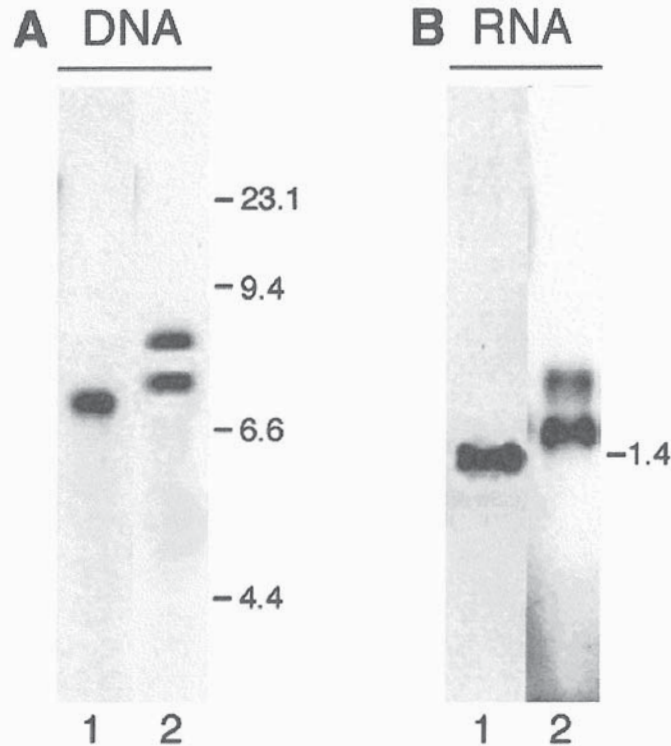
D'après Berenguer J. & al., 1987, modifié.

Taxons	Taille du génome (kb)	Nombre total de gènes
<i>Synechocystis</i> sp. (Cyanobacteria)	3573	3168
<i>Anabaena</i> sp. (Cyanobacteria)	6400	Non connu
<i>Cyanophora paradoxa</i> (Glaucocystophyta)	136	170
<i>Porphyra purpurea</i> (Rhodophyta)	191	220
<i>Chlorella vulgaris</i> (Chlorophyta)	151	111
<i>Zea mays</i> (Embryophyta)	140	132

6B : quelques caractéristiques des génomes cyanobactériens et plastidiaux eucaryotes.

DOCUMENT 7

7A : expériences d'hybridation (Southern et Northern blots) effectuées avec les ADNc de *FtsZ1* et *FtsZ2* d'*Arabidopsis thaliana* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



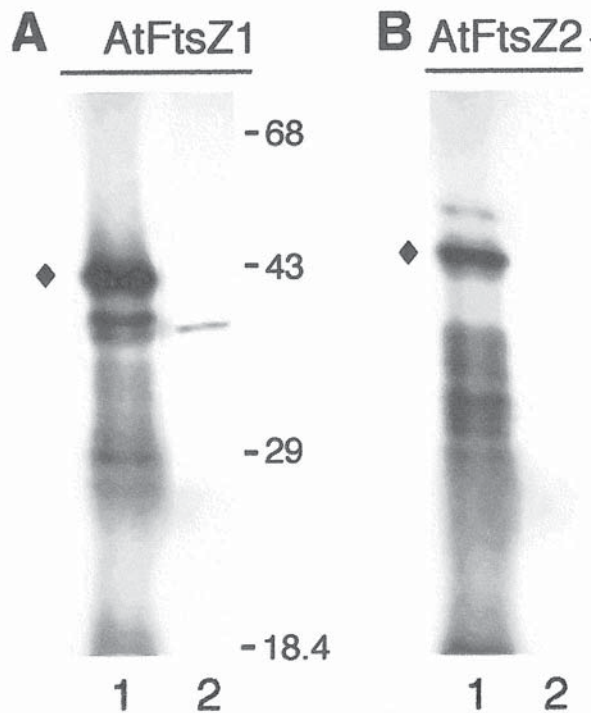
- **A** séparation par électrophorèse sur gel d'agarose (0.7 %) de l'ADN nucléaire d'*Arabidopsis thaliana* préalablement digéré avec l'enzyme *BamH1*.
- **B** séparation par électrophorèse de l'ARN poly-(A)+ d'*Arabidopsis thaliana* sur gel d'agarose (1.5 %) contenant un agent dénaturant, le formaldéhyde.

Après avoir effectué un marquage radioactif des deux séquences d'ADNc, celles-ci sont hybridées sur des membranes de nylon sur lesquelles on a préalablement transféré les acides nucléiques des gels. La radioactivité est révélée par autoradiographie.

Les pistes 1 (en A et B) correspondent à une hybridation avec l'ADNc de *FtsZ1* ; les pistes 2 (en A et B) à une hybridation avec l'ADNc de *FtsZ2*.

Les valeurs portées sur la droite correspondent à la taille des marqueurs (en kilobases) utilisés dans l'expérience.

7B : expériences de traduction *in vitro* effectuées à partir des séquences transcrites de *FtsZ1* et *FtsZ2* d'*Arabidopsis thaliana* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



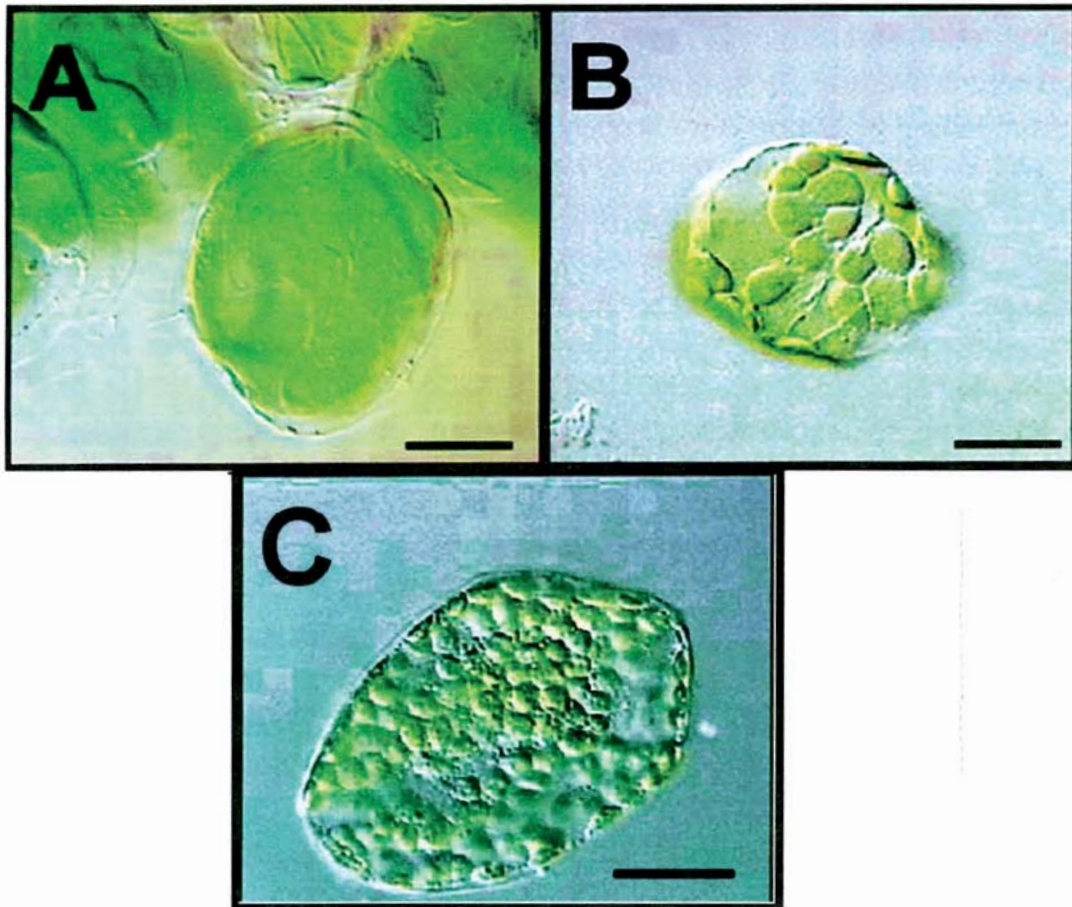
Les ADNc de *FtsZ1* et *FtsZ2* sont transcrits *in vitro* avec une T7 ARN polymérase, puis traduits *in vitro* en présence de [³⁵S]-méthionine. Les produits radiomarqués sont : soit directement déposés sur gel (pistes 1 en A et B), soit mis en présence pendant 30 minutes de chloroplastes de pois (*Pisum sp.*) isolés (pistes 2 en A et B). Dans le cas des pistes 2, après isolement par centrifugation les chloroplastes sont lysés en tampon SDS. La quantité de chloroplastes déposée est calibrée et identique pour chaque manipulation.

Les protéines sont analysées en électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dénaturante (SDS-PAGE). Les résultats sont révélés par autoradiographie.

En (A), expérience réalisée avec les transcrits *FtsZ1* ;
En (B), expérience réalisée avec le transcrit *FtsZ2* ;

NB : Une manipulation 'témoin' (non figurée ici) réalisée en présence de chloroplastes mais sans addition de transcrits, donne un résultat identique à la piste B2 après 30 minutes ;
La traduction *in vitro* (pistes 1) conduit à l'obtention de nombreux produits artéfactuels : les protéines correspondant aux ADNc *FtsZ1* et *FtsZ2* sont identifiés par des losanges.
Les valeurs indiquées à droite correspondent à la position des marqueurs de masse moléculaire (en kDa), utilisés dans l'expérience.

7C : analyse phénotypique de lignées transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* exprimant des ARN antisens spécifiques de *FtsZ1* (d'après Osteryoung & al., 1998, modifié).



On construit des lignées transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* en utilisant un vecteur comportant :

- un « gène antisens » de *FtsZ1* dont la transcription produit un ARN complémentaire au transcrit du gène normal;

- un promoteur qui permet l'expression du transgène ;

- un marqueur qui confère à la plante une résistance à la kanamycine.

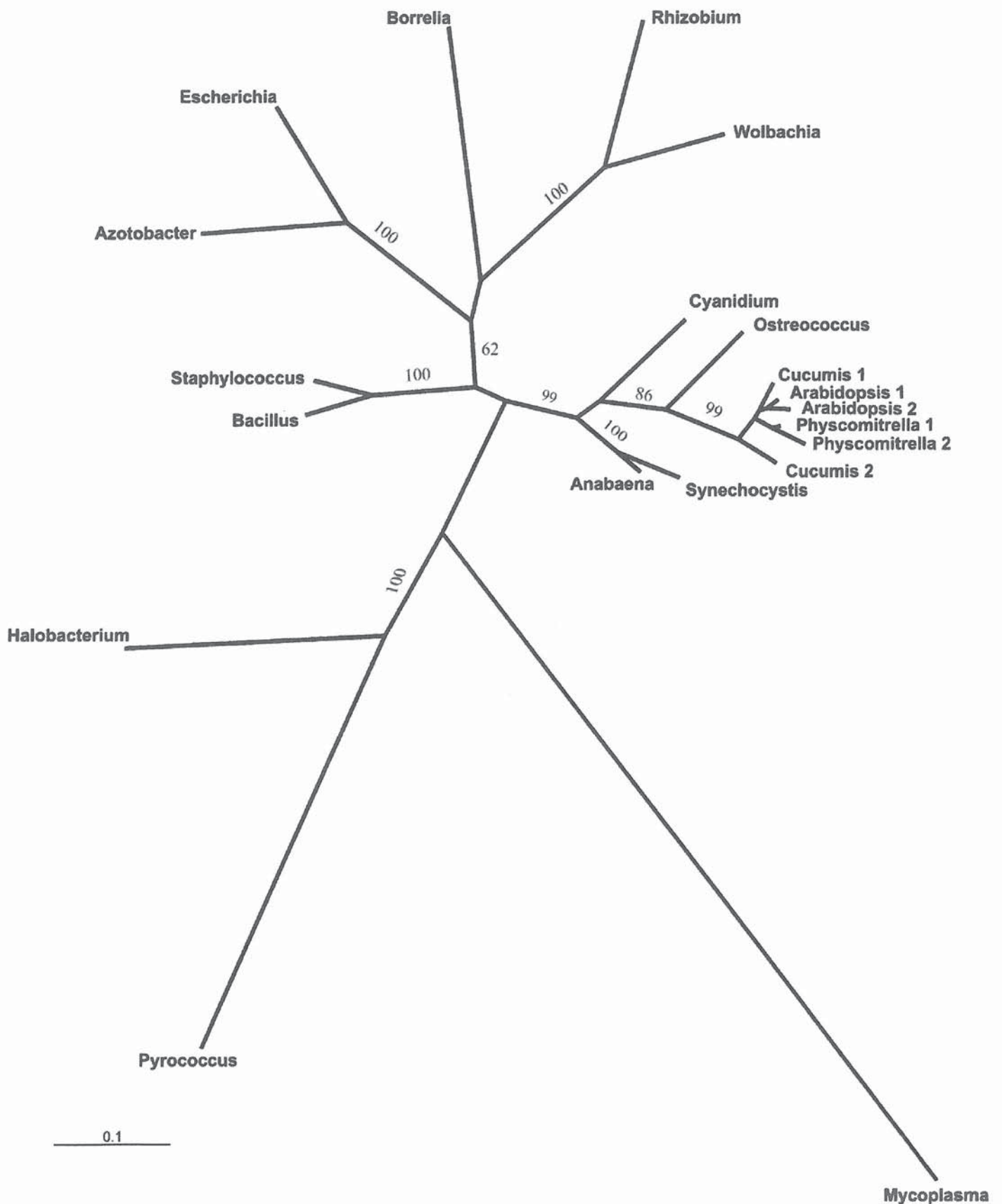
Les plants transformants sont sélectionnés par culture sur milieu contenant de la kanamycine. Les cellules de mésophylle de plants transgéniques de 23 jours sont observées (document 7C, figs A-B) et comparées au témoin (fig C) en microscopie optique à contraste de phase (qui donne une impression de relief).

A, B – Cellules du mésophylle de plants d'*Arabidopsis thaliana* transgéniques ayant incorporé le « gène antisens » *FtsZ1* ;

C – Cellule du mésophylle d'un plant d'*Arabidopsis thaliana*, non transgénique ;

Barre d'échelle : 25 μ m

DOCUMENT 8



8A - arbre phylogénétique des séquences protéiques FtsZ construit selon une analyse en Maximum de Vraisemblance. Les valeurs notées sur les branches sont des valeurs de 'Bootstrap' qui correspondent à une évaluation statistique (normée de 0 à 100%) du degré de confiance que l'on peut avoir en une branche, compte tenues des données. Ainsi, une valeur de bootstrap de 100% indique que les branches sont très fortement soutenues. Seuls les noms de genre des taxons sont portés sur l'extrémité des branches ; ils correspondent aux espèces dont les positions taxonomiques sont listées sur le document 8B. *Nb: Mycoplasma genitalium* est une bactérie parasite qui présente l'un des plus petits génomes connus des trois domaines du vivant (470 gènes).

8B – Position taxonomique classiquement admise des espèces étudiées dans le document 8A.

Halobacterium salinarum, Archaea

Pyrococcus woesei, Archaea

Borrelia burgdorferi, Spirochaetes, Eubacteria

Azotobacter vinelandii, Proteobacteria, Eubacteria

Escherichia coli, Proteobacteria, Eubacteria

Rhizobium leguminosarum, Proteobacteria, Eubacteria

Wolbachia sp. Proteobacteria, Eubacteria

Mycoplasma genitalium, Firmicutes, Eubacteria

Staphylococcus aureus, Firmicutes, Eubacteria

Anabaena variabilis, Cyanobacteria, Eubacteria

Bacillus amyloliquefaciens, Cyanobacteria, Eubacteria

Synechocystis sp., Cyanobacteria, Eubacteria

Arabidopsis thaliana, Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Physcomitrella patens, Bryophyta, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Cucumis sativus, Angiosperma, Embryophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Ostreococcus tauri, Chlorophyta, Chlorobionta, Plantae, Eucaryota

Cyanidium caldarium, Rhodophyta, Plantae, Eucaryota