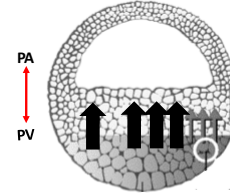


L'épreuve dure 2 heures. Répondre directement sur ce document (sauf pour la partie 5), l'insérer dans la copie anonyme, après avoir reporté le numéro d'anonymat dans le cadre en haut à droite de chaque page. Documents non autorisés. Le sujet comporte 6 pages.

1. Test de connaissances en biologie du développement animal

Figure 1 : Représentation schématique des signaux en place dans la blastula de Xénope. NB : La droite du schéma correspond à la région dans laquelle le croissant gris s'est précédemment formé.



1.1. Le stade développemental représenté en Figure 1 :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est postérieur à la gastrulation.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est postérieur à la fécondation mais antérieur à la gastrulation.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	correspond au démarrage de la gastrulation.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	correspond au démarrage de la neurulation.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	se situe au cours de la segmentation.

1.2. Sur la base de vos connaissances, sélectionnez parmi les propositions suivantes (relatives à la Figure 1) celles qui vous semblent correctes.

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Macromères et micromères désignent les premiers feuilletts embryonnaires.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Les flèches noires représentent les signaux responsables de l'induction de l'endoderme.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Les flèches noires représentent les signaux responsables de l'induction du mésoderme.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Les flèches noires représentent les signaux responsables de l'induction du neurectoderme.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Le cercle blanc délimite la région correspondant au point d'entrée du spermatozoïde.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Le cercle blanc délimite le centre organisateur de Nieuwkoop.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Le cercle blanc délimite le centre organisateur de Spemann.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Les flèches grises représentent des signaux indispensables à l'acquisition de la symétrie bilatérale.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Les flèches grises représentent la sécrétion de la β -caténine.

1.3. L'activité biochimique de la région de l'embryon délimitée par le cercle blanc en Figure 1 :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	était déjà présente dans l'ovocyte en position équivalente.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	a nécessité la rotation corticale pour sa mise en place.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	a nécessité pour sa mise en place qu'un faisceau d'actine se forme au pôle végétatif juste après la fécondation.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est nécessaire et suffisante à la mise en place des axes de polarité.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est à l'origine de la sécrétion de morphogènes spécifiques.

2. Méthodologie de l'analyse en biologie cellulaire et développement

2.1. Le gène *Nkx3.2* est un marqueur du sclérotome (région ventrale des somites). Vous souhaitez savoir s'il est suffisant à la détermination de ce tissu. Quelle stratégie expérimentale allez-vous mettre en oeuvre pour répondre à cette question et quels contrôles prévoiriez-vous ?

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je vais électroporer un vecteur codant un ARN interférent complémentaire des ARNm <i>Nkx3.2</i> dans la partie dorsale de jeunes somites épithélialisés.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je vais électroporer un vecteur codant un ARN interférent complémentaire des ARNm <i>Nkx3.2</i> dans la partie ventrale de jeunes somites épithélialisés.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je vais électroporer un vecteur codant la protéine <i>Nkx3.2</i> dans la partie dorsale de jeunes somites épithélialisés.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je vais électroporer un vecteur codant la protéine <i>Nkx3.2</i> dans la partie ventrale de jeunes somites épithélialisés.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je dois co-électroporer un vecteur codant la GFP pour identifier la région ciblée.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je disposerai d'un contrôle interne positif du côté non électroporé.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je disposerai d'un contrôle interne négatif du côté non électroporé.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je dois prévoir un autre contrôle positif (électroporation du vecteur codant la GFP tout seul).
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je dois prévoir un autre contrôle négatif (électroporation du vecteur codant la GFP tout seul).

2.2. Vous venez de cloner dans un vecteur d'expression une séquence codant une nouvelle protéine X, fusionnée à la GFP. À quel(s) type(s) d'expériences cet outil pourra-t-il vous servir et quels contrôles faudra-t-il prévoir ?

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je pourrai synthétiser les ARNm correspondants, les injecter dans un embryon de Xénope au stade 2 cellules et ainsi identifier le patron d'expression précis de ma protéine X.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je pourrai synthétiser les ARNm correspondants et les injecter dans un embryon de Xénope au stade 2 cellules dans le but de réaliser une perte de fonction.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je pourrai synthétiser les ARNm correspondants et les injecter dans un embryon de Xénope au stade 2 cellules dans le but de réaliser un gain de fonction.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je pourrai directement visualiser le côté injecté grâce à la fluorescence de ma protéine de fusion.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je devrai co-injecter des ARNm codant la β -galactosidase pour identifier le côté injecté.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Je pourrai utiliser ce vecteur pour des expériences de transfection <i>in vitro</i> dans des modèles cellulaires.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	J'aurai des indications sur la localisation subcellulaire de la protéine X.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Il me faudra un vecteur codant la GFP seule en guise de contrôle négatif pour mes injections ou mes transfections.

3. Analyse de documents : Rôle de la E-cadhérine dans la migration des cellules de crêtes neurales.

Les modifications d'expression du répertoire de cadhérines jouent des rôles cruciaux dans le contrôle de l'activité migratoire des cellules de crêtes neurales (CCN). On s'intéresse ici à la fonction de l'une d'entre-elles, la E-cadhérine, chez le Xénope.

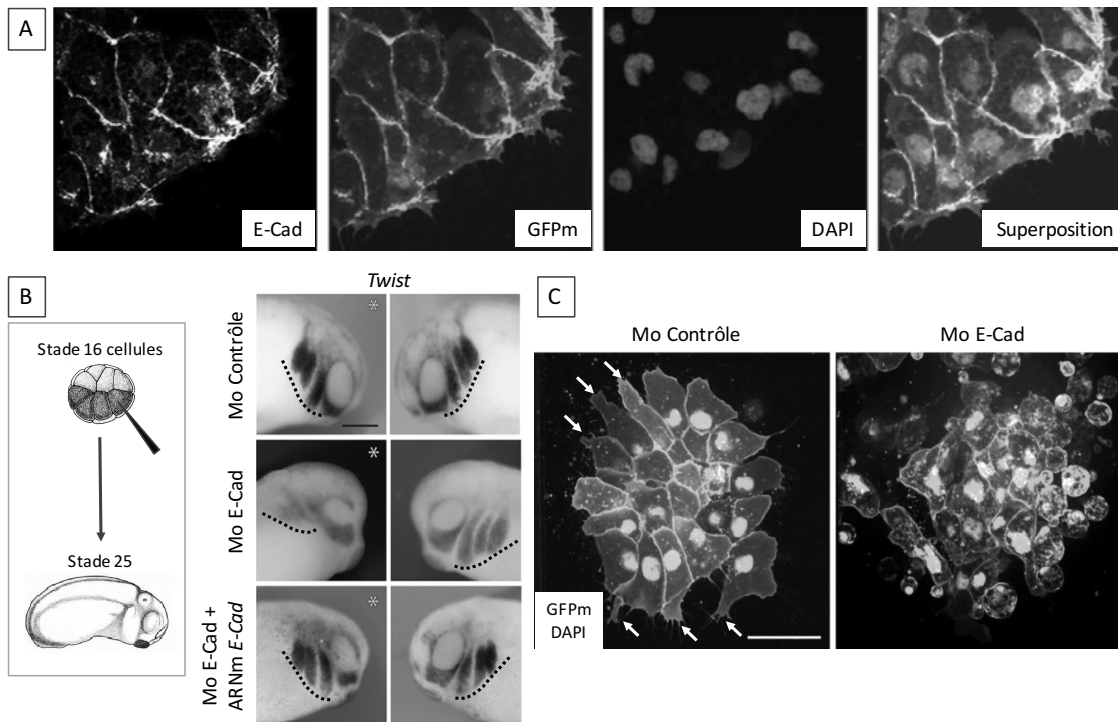


Figure 2 : (A) Analyse par immunofluorescence de l'expression de la E-cadhérine (E-Cad) sur des cellules de crêtes neurales (CCN) prélevées sur des embryons au stade 17 (fin de neurulation). Ces cellules ont été préalablement marquées à l'aide d'une GFP membranaire (GFPm). Le DAPI marque les noyaux. Le panel de droite montre la superposition des fluorescences E-Cad, GFPm et DAPI. (B) Analyse par hybridation *in situ* au stade 25 (jeune bourgeon caudal) de l'expression du gène *Twist* (un marqueur des CCN) après microinjection d'oligonucléotides morpholinos dans un unique blastomère au stade 16 cellules. Le blastomère ciblé contribue à la formation des CCN du côté droit ou gauche de l'embryon. Un lot d'embryons a reçu une injection de morpholinos standards (Mo Contrôle qui n'a pas de cible spécifique), un autre a reçu une injection de morpholinos dirigés contre les ARNm *E-Cad* (Mo *E-Cad* ; complémentaires de la région incluant une partie du 5'UTR et le codon START) et un dernier a reçu une co-injection de Mo *E-Cad* et d'ARNm *E-Cad*. Ces ARNm codent une protéine fonctionnelle mais présentent des mutations dans leur région 5'UTR les rendant insensibles au Mo *E-Cad*. Les embryons sont photographiés de profil avec un zoom sur la région antérieure. L'astérisque indique le côté injecté, l'autre photo correspond au côté non injecté. Les pointillés marquent le front de migration des CCN. (C) Observation en microscopie à fluorescence de CCN marquées à l'aide d'une GFP membranaire et de DAPI. Les explants ont été prélevés sur des embryons au stade 25 après injection de Mo Contrôle ou de Mo *E-Cad* comme décrit en B. Ils ont été mis en culture sur des boîtes de pétri recouvertes de fibronectine.

3.1. D'après vos connaissances, les cadhérines :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont des protéines transmembranaires.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont des protéines cytoplasmiques.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont des protéines nucléaires.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont impliquées dans les interactions juxtacrine.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont impliquées dans les interactions paracrine.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	interagissent entre elles.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont des protéines dépendantes du calcium.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	sont connectées au cytosquelette d'actine dans leur partie intracellulaire.

3.2. La figure 2A montre que :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	la E-cadhérine est exprimée dans les cellules de crêtes neurales.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	la E-cadhérine est exprimée dans le tube neural.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	la E-cadhérine est localisée au noyau.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	la E-cadhérine est localisée au niveau des membranes plasmiques.

3.3. Quel est l'objectif de chacune des injections réalisées en Figure 2B ?

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection de Morpholinos standards constitue un contrôle négatif de l'expérience.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection de Morpholinos « Mo E-Cad » vise à réaliser une perte de fonction totale en empêchant la transcription du gène correspondant.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection de Morpholinos « Mo E-Cad » vise à réaliser une perte de fonction partielle en empêchant la transcription du gène correspondant.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection de Morpholinos « Mo E-Cad » vise à réaliser une perte de fonction totale en empêchant la traduction de l'ARNm correspondant.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection de Morpholinos « Mo E-Cad » vise à réaliser une perte de fonction partielle en empêchant la traduction de l'ARNm correspondant.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection conjointe de Mo E-Cad et d'ARNm <i>E-Cad</i> vise à vérifier que le phénotype observé dans la condition « Mo E-Cad » est bien lié à la perte de fonction de la E-cadhérine et non à des effets secondaires du morpholino.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection conjointe de « Mo E-Cad » et d'ARNm <i>E-Cad</i> vise à tester l'efficacité du morpholino.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	L'injection conjointe de « Mo E-Cad » et d'ARNm <i>E-Cad</i> vise à surexprimer la E-cadhérine pour réaliser une expérience complémentaire de gain de fonction.

3.4. La Figure 2B montre que :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	en condition de perte de fonction de la E-cadhérine, les cellules de crêtes neurales ne délaminent plus du tube neural.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	en condition de perte de fonction de la E-cadhérine, les cellules de crêtes neurales présentent une migration altérée.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	en condition de perte de fonction de la E-cadhérine, les cellules de crêtes neurales présentent une migration accrue.

3.5. Quelle structure est pointée par les flèches blanches en Figure 2C (1 mot attendu) ?

--	--

3.6. Analysez la Figure 2C en suivant les étapes ci-dessous.

	Description du phénotype observé en Figure 2C (1 phrase ; se focaliser sur les structures pointées par les flèches blanches) :
	Conclusion immédiate de l'expérience (1 phrase) :
	Ces résultats sont-ils en accord avec ceux observés en Figure 2B (justifiez) :

4. Biologie du Développement des Plantes

4.1. Fonctionnement du Méristème Apical Caulinaire (MAC)

4.1.1 Sur le schéma ci-dessous, représenter l'organisation du MAC en zones (Figure 3A) et en couches (Figure 3B).

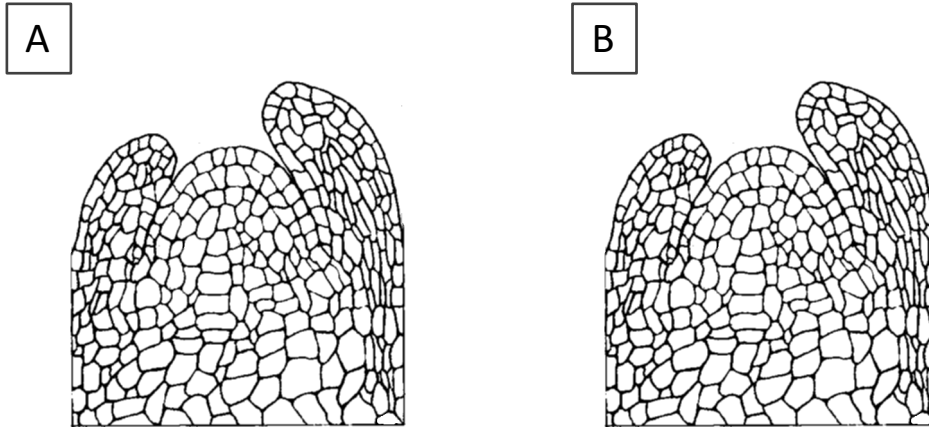


Figure 3 : (A) Représentation schématique du MAC en zones. (B) Représentation schématique du MAC en couches.

4.1.2 Sur le schéma ci-dessous (Figure 4A), représenter le domaine d'expression du gène *WUSCHEL* chez une plante de type sauvage.

4.1.3 Dans le cadre prévu (Figure 4B), représenter le phénotype du MAC d'un mutant perte de fonction pour *clavata* 1, 2 ou 3 (mutant *clavata*). Le schéma sera à la même échelle que celle du type sauvage de la Figure 4A. **Il n'est pas nécessaire de représenter le contour de chaque cellule.** Sur cette même Figure 4B, représenter également, le domaine d'expression du gène *WUSCHEL* dans le contexte d'un mutant *clavata*.

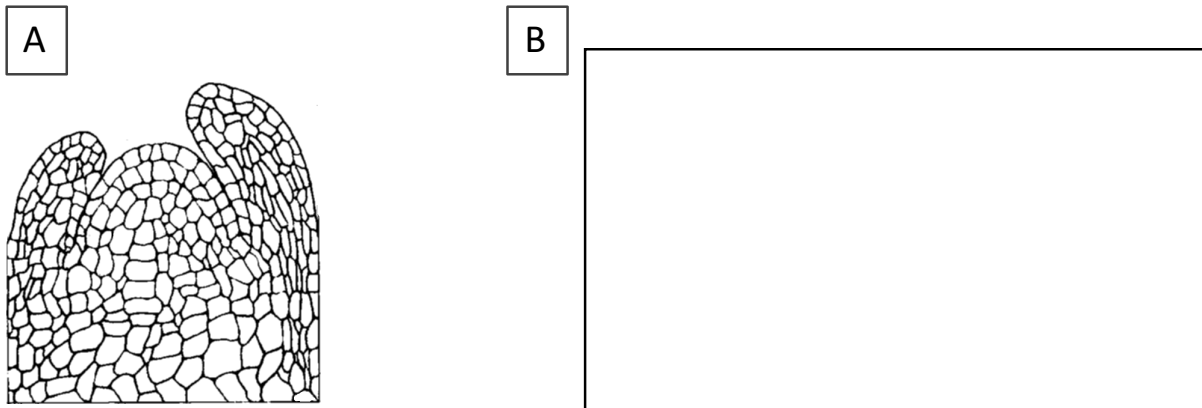


Figure 4 : (A) Représentation schématique du domaine d'expression du gène *WUSCHEL* chez une plante de type sauvage. (B) Représentation schématique du domaine d'expression du gène *WUSCHEL* chez un mutant *clavata*.

4.1.4 D'après vos connaissances, la protéine *WUSCHEL* :

Vrai	Faux	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est un facteur de transcription.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	agit uniquement dans les cellules qui expriment le gène <i>WUSCHEL</i> .
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est nécessaire au maintien des cellules souches caulinaires.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	est synthétisée dans le centre organisateur du MAC.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	réprime la transcription du gène <i>CLAVATA</i> 3.

4.2. Développement racinaire

Le mutant perte de fonction *plethora* (*plt*) d'*Arabidopsis* a été identifié lors d'un crible de mutants présentant un défaut de développement racinaire (Figure 5A). Un examen détaillé du méristème apical racinaire (MAR) a été effectué de façon à mieux caractériser les défauts de développement du mutant *plt* (Figure 5B-E).

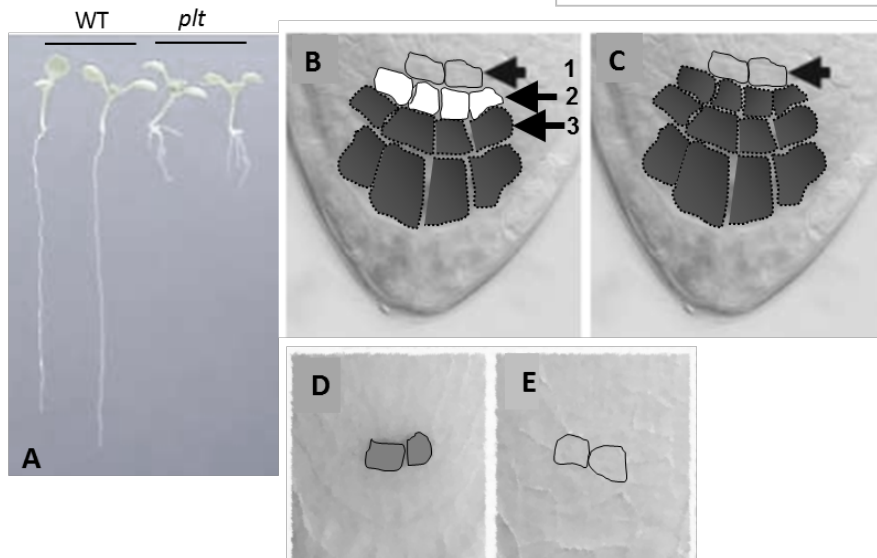


Figure 5 : (A) Phénotype racinaire de deux plantes sauvages ou deux plantes mutantes *plt*. (B, C) Analyse cytologique de coupes de pointes racinaires sauvage (B) ou mutante *plt* (C). Les cellules représentées en gris foncé sont des cellules présentant une coloration positive au Lugol (marquant les amyloplast). (D, E) Des plantes sauvages (D) et mutantes *plt* (E) ont été transformées avec une construction moléculaire permettant d'exprimer le gène rapporteur *GUS* sous le contrôle du promoteur du gène *WOX5*. *WOX5* est spécifiquement exprimé dans les cellules du centre quiescent et code une protéine indispensable à leur identité. En D, l'expression du gène *GUS* apparaît en gris clair.

4.2.1 Légendez la Figure 5B, en indiquant ci-dessous le nom des cellules pointées par les flèches.

Cellules de type 1 =

Cellules de type 2 =

Cellules de type 3 =

4.2.2 La Figure 5B, C montre que :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT est nécessaire pour limiter les divisions des cellules de l'extrémité racinaire.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT est nécessaire pour induire la différenciation de cellules souches.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT est suffisant pour induire la différenciation de cellules souches.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT est nécessaire pour inhiber la différenciation de certaines cellules souches.

4.2.3 La Figure 5D, E montre que :

Oui	Non	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT a une action positive sur l'expression du gène <i>WOX5</i> .
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur PLT a une action négative sur l'expression du gène <i>WOX5</i> .
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le mutant <i>plt</i> se caractérise par la disparition des cellules du centre quiescent.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	le facteur <i>plt</i> se caractérise par une perte de l'identité des cellules du centre quiescent.

4.2.4 Rappelez en une phrase le rôle du centre quiescent.

4.2.5 Compte-tenu de ce rôle et des résultats précédents, proposez une hypothèse expliquant le phénotype racinaire des mutants *plt* présenté en Figure 5A.

5. Biologie cellulaire (répondre à cette partie sur la copie anonyme)

Les facteurs de croissance de la famille du FGF (Fibroblast Growth Factor) contrôlent la prolifération de nombreux types cellulaires, en se fixant sur leurs récepteurs nommés FGFR. Des mutations activatrices dans l'un de ces récepteurs, le récepteur FGFR3, sont retrouvées chez 39% des patients souffrant de tumeurs bénignes de la face et du tronc (une pathologie nommée « kératose séborrhéique »). On s'intéresse ici à l'une d'entre-elles, la mutation S249C (remplacement d'une sérine par une cystéine en position 249).

Afin de déterminer si cette mutation est à l'origine de la formation des tumeurs, un transgène codant le récepteur muté sous contrôle d'un promoteur spécifique des cellules épidermiques a été introduit dans des souris. Une analyse de la prolifération cellulaire a ensuite été effectuée grâce à un test d'incorporation de bromodeoxyuridine (BrdU ; un analogue de la thymidine). Le BrdU a été injecté dans les souris, puis, après sacrifice des animaux, révélé sur des coupes de peau par immunocytochimie.

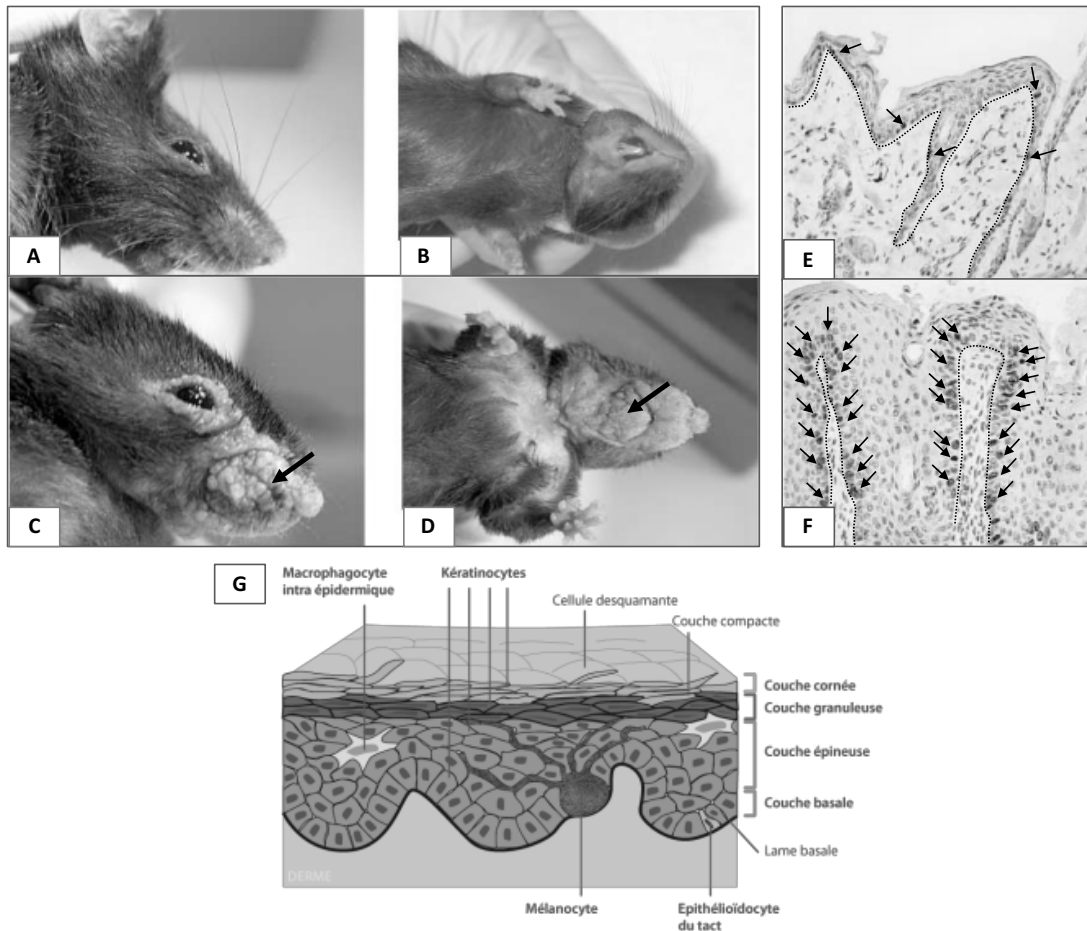


Figure 6 : (A-D) Photographies du museau et du cou de souris contrôles sauvages (A, B) et de souris surexprimant le récepteur FGFR3 muté S249C sous contrôle du promoteur du gène de la kératine 5 (C, D). La kératine 5 est une protéine de filament intermédiaire, spécifiquement exprimée dans les cellules de la couche basale de l'épiderme. Les flèches noires pointent les excroissances épidermiques. (E, F) Révélation du BrdU par immunocytochimie sur des coupes d'épiderme contrôle (E) ou surexprimant le récepteur FGFR3 muté (F). Les cellules marquées apparaissent en gris foncé. Elles sont pointées par les flèches noires. Les pointillés indiquent la limite épiderme/derme. (G) Représentation schématique de la structure de l'épiderme.

Question 1 : Décrire brièvement la Figure 1 A-D et conclure sur l'impact de la surexpression du récepteur muté.

Question 2 : Dans un tissu adulte sain, quelles cellules peuvent proliférer ? Quel est leur rôle ? Pourquoi les autres cellules ne prolifèrent-elles pas ?

Question 3 : Quelle phase du cycle cellulaire est marquée par le BrdU ? Justifier.

Question 4 : Décrire l'effet de la surexpression du récepteur muté sur la prolifération au sein de l'épiderme (Figure 1 E, F). Préciser en vous aidant du schéma en G quel type cellulaire est affecté. Proposer une explication au fait que toutes les cellules épidermiques ne soient pas concernées par l'effet observé.

Question 5 : Sachant que la mutation S249C affecte le fonctionnement de la région extracellulaire du récepteur, entraînant son activation permanente même en l'absence du ligand, proposez une explication mécanistique au phénotype observé.