

Banque BCPST Inter-ENS/ENPC - Session 2017

RAPPORT SUR L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOLOGIE

Écoles concernées : ENS Paris-Saclay, ENS de Lyon, ENS (Paris), ENPC

Coefficients (en pourcentage du total d'admission) :

ENS de Paris-Saclay : 12,3 %

ENS de Lyon : Option biologie : 13,2 % , Option ST : 6,6 %

ENS (Paris) : Option biologie : 4,9 % , Option ST : 2,8 %

ENPC : 5,0%

Membres du jury :

G. Barthole, R. Berardozzi, A. Bessis, J.-B. Boulé, M. Coudel, E. Guillaume, P. Rialland, E. Thierry, M. Thion.

L'épreuve de biologie de la session 2017, d'une durée totale de 6h, proposait aux candidat·e·s de s'intéresser à la notion de Temps en biologie. Un sujet de synthèse d'une durée conseillée de 2h abordait les aspects temporels du développement et deux études de documents indépendantes traitaient de l'horloge centrale des Mammifères et de l'importance des rythmes endocrines.

Comme chaque année, le sujet était exigeant. La majorité des candidat·e·s a abordé les trois parties proposées. Les quelques candidat·e·s n'ayant pas traité le sujet de synthèse ont, de fait, été fortement pénalisés·es par ce choix. Le jury salue ici le niveau remarquable de quelques candidat·e·s qui ont su travailler rapidement mais avec beaucoup de rigueur tout en mobilisant et en synthétisant une grande quantité de connaissances issues du programme ou des énoncés des exercices.

SUJET DE SYNTHÈSE : Aspects temporels du développement

Cette épreuve permet d'évaluer les capacités de **communication** et d'**argumentation scientifique** des candidat·e·s ainsi que leurs compétences rédactionnelles. Le sujet proposé cette année demandait un effort de **synthèse** et d'**organisation** important de manière à sélectionner et rassembler les éléments pertinents du programme répondant au sujet. De plus, ce sujet nécessitait des capacités d'intégration pour être envisagé depuis l'échelle moléculaire à l'échelle de l'organisme. Le paragraphe accompagnant l'intitulé précisait les attendus, à savoir, d'aborder le développement animal aussi bien que végétal au stade embryonnaire aussi bien qu'au stade post-embryonnaire.

1) CONTENU

Délimitation du sujet et notions attendues

Le texte accompagnant l'intitulé délimitait temporellement et phylogénétiquement le sujet. Il faisait appel à des notions de la partie II-D « Ontogenèse et reproduction » et de la partie II-E « Diversité morpho-fonctionnelle des Angiospermes » du programme. De plus, certaines connaissances

abordées en TP pouvaient être réinvesties (étude d'embryons d'amphibiens, organisation générale d'un Angiosperme ou anatomie de ses graines).

La difficulté du sujet résidait dans l'approche temporelle des processus de développement : cet aspect temporel est en effet présenté majoritairement en filigrane dans le programme et demandait donc aux candidat·e·s un effort de sélection, de synthèse et d'organisation important. Même s'il est à noter que dans la plupart des copies, le sujet a été traité de manière incomplète, il faut saluer le fait que la majorité des candidat·e·s ait fait ces efforts.

Il était explicitement attendu des candidat·e·s qu'il·elle·s caractérisent les grandes étapes du développement connues chez les animaux et les végétaux en termes de chronologie, de vitesse et de durée. On attendait ainsi que soit envisagée la temporalité des processus de croissance, différenciation et migration ainsi que leur articulation.

De plus, comme précisé dans le texte accompagnant le sujet, le contrôle temporel de ces mécanismes devait être abordé. Le contrôle par des facteurs environnementaux fait l'objet d'une monographie dans le programme et a donc été abordé avec plus ou moins de détails et de justesse. En revanche, peu de candidat·e·s ont explicitement fait ressortir les concepts clefs d'un contrôle temporel endogène, alors que le programme contient les éléments nécessaires. Ainsi, la notion de compétence a été trop rarement citée et explicitée, le contrôle génétique associé a été survolé et les mises en évidence ont généralement fait défaut. Enfin, l'idée de coordination entre différents paramètres environnementaux et/ou endogènes n'a été que très rarement évoquée.

Le jury aurait souhaité une prise de recul sur les différents exemples au programme, et que le sujet soit envisagé à une échelle plus large. Ainsi, d'un point de vue écologique et évolutif, il était intéressant de discuter des différents « points de contrôle » du développement des Angiospermes par l'environnement et de leurs avantages en termes de reproduction et de survie au fil des saisons, de la variabilité inter-espèce en ce qui concerne la temporalité du développement ou son contrôle, ou des liens entre ontogenèse et phylogenèse.

2) MÉTHODE

Rigueur, vocabulaire et rédaction

Le jury tient à rappeler que la biologie possède un vocabulaire précis pour désigner chaque élément, phénomène ou concept. Il est donc primordial de veiller à la **justesse du vocabulaire** utilisé. Il est à noter que la syntaxe et l'orthographe ont été satisfaisantes. En revanche, de nombreuses copies manquaient de **concision**, ce qui rend leur lecture malaisée et a pour conséquence que les candidat·e·s ont manqué de temps pour traiter le reste du sujet.

Introduction et plan

L'introduction se doit d'abord de poser un **cadre général**, plus large que celui du sujet. Cette première partie est inexistante dans la majorité des copies. La seconde partie de l'introduction consiste à définir **les termes du sujet**. Si la définition du temps pouvait être ardue, la définition du développement devait être clairement explicitée pour éviter les hors-sujets. De même, les limites suggérées dans le texte accompagnant l'intitulé devaient être énoncées, à savoir une limitation aux pluricellulaires,

Angiospermes et Métazoaires, mais en considérant le développement post-embryonnaire aussi bien qu'embryonnaire. Le jury déplore que les problématiques ne soient souvent que peu travaillées : « Nous allons nous demander quels sont les aspects temporels du développement », que l'on retrouve dans beaucoup de copies n'est pas un énoncé de problématique et ne permet pas de définir un fil directeur clair pour l'exposé, ni de justifier l'intérêt du sujet. Les plans se sont alors limités à des découpages arbitraires sans aucune justification par rapport au sujet: Développement embryonnaire / Développement post-embryonnaire ou Développement animal / Développement végétal. De tels plans ne permettent aux candidat·e·s d'envisager le sujet ni dans sa globalité ni sous un angle intégré. Le jury rappelle donc que **la problématique comme le plan doivent être réfléchis** pour pouvoir proposer un discours cohérent et construit. Les titres des paragraphes doivent refléter la progression du plan, et être précis, de manière à être adaptés à leur contenu.

Fil conducteur et progression logique du raisonnement

Au-delà de la justesse des connaissances présentées, le devoir de synthèse permet d'évaluer la capacité des candidat·e·s à **produire un raisonnement** à partir du sujet proposé. Ainsi, tout élément exposé doit être très clairement relié au sujet, ainsi qu'aux éléments le précédant et le suivant. L'ordre des différents concepts ainsi que les transitions entre chacun d'entre-eux sont donc à travailler avec soin, et lors de la rédaction, les candidat·e·s doivent veiller à chaque instant à ne pas dévier de leur ligne directrice, et à **ne pas s'égarer dans des digressions** sans lien avec le sujet ou anticipant une étape ultérieure du raisonnement.

Démarche scientifique et expérimentale

La démarche scientifique (hypotético-déductive) n'est que peu utilisée dans les devoirs. Or les mises en évidence expérimentales possibles étaient nombreuses : expériences de migration cellulaire, mécanismes développementaux se déroulant à un stade précis, utilisation de mutants du développement chez les animaux et les végétaux, mise en évidence expérimentale de l'influence des conditions environnementales sur le développement post-embryonnaire des angiospermes, *etc.* De plus, il était possible de partir d'observations simples et concrètes pour aborder certains phénomènes : cernes des arbres, stades de développement des amphibiens, ... La biologie est une science expérimentale qui s'appuie sur le réel. Elle ne peut se limiter à un exposé théorique, accumulation de notions et de modèles. Il est donc important que la démarche expérimentale ressorte dans cette épreuve, ce qui explique qu'elle soit fortement valorisée par le jury.

Exemples et illustrations

Le jury félicite les candidat·e·s qui utilisent des exemples et illustrations pour appuyer leur discours et leurs idées. Malheureusement, dans de nombreuses copies, les exemples sont peu précis et l'aspect temporel n'est pas toujours efficacement mis en avant. Par ailleurs, des exemples chiffrés (ordre de grandeur) sont nécessaires pour appuyer la démonstration.

Les figures manquent globalement de rigueur et de précision. Nous rappelons qu'elles doivent comporter un titre et une légende explicite. Elles doivent être soignées et illustrer précisément la notion présentée : ainsi il est souvent indispensable de les adapter pour répondre aux besoins du sujet et donc de ne pas simplement recopier un schéma appris. Pour matérialiser la temporalité d'un

processus, l'utilisation de flèches était une solution élégante. De plus, il est souvent judicieux d'utiliser une même illustration pour illustrer plusieurs notions : ainsi, la différenciation musculaire pouvait permettre d'illustrer à la fois le processus de différenciation aux échelles moléculaire et cellulaire et son contrôle par des facteurs endogènes.

Conclusion

Toute conclusion doit comporter un résumé des idées essentielles développées pendant l'exposé et un élargissement du sujet pour dépasser les limites fixées en introduction ou proposer des applications.

ANALYSE DE DOCUMENTS

1) REMARQUES GÉNÉRALES

Les parties B et C permettaient d'évaluer diverses compétences scientifiques:

- (1) la capacité à **analyser des résultats expérimentaux**, y compris **de manière critique**
- (2) la capacité à **comprendre des protocoles** et à **proposer soi-même des expériences**
- (3) la capacité à **réaliser le bilan d'une série d'expériences** se rapportant à un même sujet, à prendre du recul vis-à-vis d'elle et à en tirer des conclusions
- (4) les capacités à mener une **réflexion sur les phénomènes biologiques** mis en évidence et à **proposer des hypothèses pertinentes** permettant de les expliquer

Il s'ensuit que **la simple analyse des figures ne suffit** pas pour réussir ces exercices : de trop nombreux·ses candidat·e·s passent d'une figure à l'autre sans jamais dépasser le stade de la description, ne donnant ainsi aucune chance au jury d'évaluer les compétences mentionnées ci-dessus.

A l'inverse, on ne peut espérer comprendre les phénomènes biologiques étudiés dans ces documents en *n'analysant les figures que partiellement*, et en concluant trop rapidement sans prendre en compte l'ensemble des informations présentées.

Par ailleurs, le jury attire l'attention des candidat·e·s sur la nécessité de *comprendre les protocoles* décrits pour pouvoir exploiter les résultats obtenus sans quoi l'analyse et l'interprétation des figures sont souvent erronées et donc inutiles. Certaines techniques de base en biologie ne sont pas reconnues ou pas comprises par une forte proportion de candidat·e·s, alors qu'elles font partie du programme et que leur maîtrise est un pré-requis à la réussite de l'exercice.

Il est donc indispensable pour les étudiant.es préparant le concours, et se destinant à une carrière scientifique, de maîtriser la méthode d'étude de documents, et de l'appliquer avec rigueur.

Le jury déplore qu'un certain nombre de candidat·e·s semble avoir choisi cette année de parcourir l'ensemble des questions à la recherche de points « faciles » et ait abandonné les questions demandant de la réflexion. Il faut donc sans doute préciser à l'intention des candidat·e·s des sessions ultérieures que cette stratégie ne permet pas de réussir une telle épreuve car le barème valorise

fortement les compétences (2), (3) et (4) sus-mentionnées. L'épreuve a donc été particulièrement discriminante lors de cette session, la majorité des candidat-e-s ayant abordé les parties B et C mais une faible minorité ayant réussi à construire au moins un modèle cohérent et argumenté.

Enfin, nous rappelons ici que, comme dans toutes les épreuves du concours, les compétences de **communication scientifique** sont évaluées : il est attendu la construction d'une argumentation rigoureuse, suivant une progression logique et en distinguant précisément les liens de causalité, les simples corrélations et les hypothèses.

Dans le but d'aider les candidat-e-s se préparant à cette épreuve, le jury souhaite donc rappeler ici quelques conseils méthodologiques :

- **Bien lire l'énoncé.** Il renferme les informations essentielles à la compréhension des documents et pose l'objectif de chaque expérience. *Par exemple, l'objectif de la figure 2 (partie B) était d'identifier les déterminants moléculaires contrôlant la temporalité de l'activité biologique par une méthode génétique ; la conclusion naturellement attendue à la question 2b, était donc d'identifier le/les gènes impliqués. De même, sur la figure 5C (partie C), les structures pointées par les flèches étaient des noyaux, l'interprétation « GC-R pénètre dans la cellule » était donc inappropriée.*

- **Analyser les documents de manière détaillée** : décrire les variations temporelles, analyser les valeurs quantitatives, s'interroger sur la significativité des différences observées, s'intéresser à l'ensemble des données présentées dans la figure.

- **Utiliser un vocabulaire précis et adapté.** Dire qu'un facteur est « impliqué dans », « intervient dans » ou « a un rôle dans » n'a pas la même signification que « est nécessaire à », « est suffisant à » ou « est nécessaire et suffisant à ». Le jury accorde une grande importance à la rigueur scientifique et au choix des termes utilisés. Lorsque l'énoncé introduit une terminologie précise, les candidat-e-s sont invité-es à l'utiliser à la place de termes plus génériques.

- **Réaliser des schémas complets.** Tout schéma doit être légendé et explicité : un schéma non compréhensible par le jury ne pourra pas être valorisé. *Ainsi, le schéma demandé à la question 6 (partie B) devait comporter une légende (explicitant les flèches notamment). Celui de la question 8 (partie C) pouvait être inspiré d'un schéma de cours mais devait reprendre les éléments et la terminologie du cas étudié dans l'exercice.*

- **Interpréter et conclure à l'issue de chaque figure.** En restant au niveau de la simple description ou de l'analyse superficielle, il est difficile de progresser dans la compréhension du phénomène biologique étudié. Il est nécessaire d'**exploiter l'ensemble des données** contenues dans le document, puisque toutes sont utiles pour bien appréhender le phénomène proposé. Le jury recommande de suivre le schéma classique suivant : **(1) analyse des résultats, (2) interprétation des résultats, (3) conclusions** (notamment s'il y a plusieurs figures) et éventuellement **(4) énoncé d'hypothèses explicatives**. *Par exemple, figure 2D (partie B), indiquer que la moitié des descendants à une période d'activité locomotrice ressemblant à celle du sauvage et l'autre moitié ressemblant à celle du descendant 25 n'est pas suffisant. Ces résultats doivent être interprétés à la*

lumière vos connaissances en génétique et en proposant un raisonnement adapté. Il est également essentiel d'analyser les témoins pour pouvoir conclure rigoureusement. Enfin, il ne faut pas sur-interpréter les résultats expérimentaux, et déduire des relations de cause à effet à partir de simples corrélations. Par exemple, figure 8 (partie B), les variations de la teneur en glycogène sont corrélées à l'expression de la glycogène synthase et de la glycogène phosphorylase ; il est impossible à partir des données fournies d'en déduire une relation de cause à effet.

- Indiquer clairement si les conclusions que vous donnez sont directement issues de l'analyse des documents et donc démontrées par les données expérimentales, ou s'il s'agit d'hypothèses spéculatives. Si le jury encourage les candidat·e·s à proposer des hypothèses après l'interprétation des résultats, celles-ci ne doivent pas être reprises dans les questions suivantes comme des éléments démontrés, au risque d'aiguiller l'analyse dans une mauvaise direction. Elles doivent au contraire être testées à nouveau et remises en question par les nouvelles données. Il est par ailleurs essentiel pour des étudiants engagés dans des études scientifiques de pouvoir réfléchir et envisager, pour chaque résultat, les différentes interprétations/hypothèses explicatives possibles. *Par exemple, dans la figure 4B (partie B), PER1 inhibe l'expression de LACZ, ce qui peut s'expliquer par deux hypothèses : PER1 inhiberait soit l'association CLOCK-BMAL1, soit l'association de CLOCK avec le 21-mer a.*

- Intégrer l'ensemble des données apportées par les différentes figures dans un modèle général que vous devez construire de vous-même tout au long de l'exercice. Les sujets sont construits pour permettre aux candidat·e·s, en faisant la synthèse de leurs interprétations successives, de proposer une vision d'ensemble du mécanisme étudié. Sauf cas particulier, les figures ne sont pas indépendantes les unes des autres. Certaines questions, en général à la fin de chaque partie, incitent les candidat·e·s à faire cet effort de synthèse (qui ne doit pas se limiter à résumer la question précédente), mais on attend que les réponses aux différentes questions soient cohérentes entre elles et s'appuient sur (ou soient discutées en fonction) des réponses précédentes. Si des incohérences sont notées par le candidat, le jury apprécie que celles-ci soient commentées.

- Maîtriser les techniques de base de biologie, tant dans leur protocole que dans leur principe. Le principe du Western blot et sa finalité sont mal maîtrisés par les candidat·e·s, tout comme le rôle du témoin de charge qui doit par ailleurs être analysé, et non pas simplement évoqué (cf. correction de la question 5 de la partie C). Le **vocabulaire spécifique** des techniques est souvent aussi approximatif : *par exemple, dans les électrophorèses, on parle de bandes (et non pas de taches, traits, ou autre).*

- Concision, clarté et rédaction. Il est inutile d'introduire chaque expérience par une description du protocole qui paraphrase le texte. Il est préférable d'approfondir l'analyse. De plus, l'écriture et la syntaxe doivent être soignées de manière à être déchiffrable et compréhensible par les correcteurs. Il est fortement recommandé de préférer des phrases courtes mais claires, à des phrases longues comportant de si nombreuses propositions subordonnées qu'elles en deviennent incompréhensibles.

Une manière de progresser consiste bien évidemment à s'exercer sur des sujets d'annales en s'appuyant sur la lecture des rapports de jury correspondants. Quelques éléments de compréhension et de correction pour chaque partie sont proposés ci-dessous à cette fin.

2) ELEMENTS DE CORRECTION DE LA PARTIE B

Cette partie avait pour but d'étudier l'horloge biologique centrale des Mammifères et de construire pas à pas les grandes lignes de son fonctionnement au niveau moléculaire. Ainsi, on pouvait mettre en évidence un système d'expression périodique et journalier de gènes reposant sur un jeu d'activation/inhibition réciproque au sein des noyaux supra-chiasmiques (NSC). Cette expression cyclique auto-entretenu est synchronisée grâce à la lumière via le gène *PER1*. La fin du sujet s'intéressait à l'horloge périphérique des hépatocytes, son lien avec l'horloge centrale et son potentiel rôle physiologique.

Question 1 - Une analyse de la figure 1 permettait de mettre en évidence l'existence d'un rythme biologique chez le rongeur, (i) que la périodicité de ce rythme est dépendante de la présence des NSC et (ii) que la durée de cette période (24 h) et sa synchronisation est dépendante de la lumière. Ce document ne présentait aucune difficulté mais demandait une analyse précise, exhaustive et rigoureuse de l'ensemble des informations qu'il contenait. Trop peu de candidat.es ont su aller jusqu'au bout de l'analyse et de l'interprétation, ce qui est fortement dommageable car il servait de base à la compréhension des figures suivantes.

Question 2 – L'expérience de la figure 2 s'intéressait au(x) gène(s) contrôlant la temporalité de l'activité biologique des rongeurs. Il s'agissait d'une expérience classique de génétique, avec mutagenèse puis croisement en retour (backcross) avec un parent sauvage permettant d'étudier la ségrégation d'un caractère, ici, la période de l'activité locomotrice. On pouvait ainsi déduire que l'individu 25 porte une seule mutation à l'état hétérozygote dominante ou co-dominante affectant un gène responsable du contrôle de la période d'alternance des phases d'activité et de repos de l'animal. Seuls quelques rares candidat.es ont su mener une étude génétique complète et rigoureuse pour aboutir à cette conclusion.

Question 3 - L'étude proposait ensuite de préciser le rôle physiologique de *CLOCK* à l'aide d'individus chimériques *CLOCK^{+/+}LACZ^{+/+}* *CLOCK^{-/-}LACZ^{-/-}*, *LACZ* étant un gène rapporteur. La question 3 invitait à analyser un document complexe contenant de nombreuses informations dont il fallait identifier des corrélations entre paramètres. On pouvait notamment remarquer que plus la couleur des NSC est intense, plus la période d'activité locomotrice est centrée autour de 23,8 h (semblable au sauvage) et présente une faible variabilité inter-individuelle. Ainsi, la régularité de la période d'activité autour de 23,8 h du rongeur est corrélée à la présence du gène *CLOCK* dans les NSC. De trop nombreux.sees candidat.es se sont contenté.es de décrire la figure sans en dégager des corrélations et faire le lien avec ce qui précédait.

Question 4 - La figure 4 regroupait un ensemble d'expériences complémentaires les unes des autres visant à élucider le fonctionnement de l'horloge biologique des Mammifères. La question 4 décomposait l'analyse de cette figure pour permettre aux candidat.es de construire un modèle moléculaire.

Avant d'analyser une figure, il est nécessaire de s'assurer d'avoir correctement compris le protocole mis en œuvre, la question 4a demandait aux candidat.es de se pencher sur ce point. Il était attendu un schéma précis et complet reprenant les notations de l'énoncé. De nombreux.ses candidat.es n'ont pas saisi que l'on souhaitait ici tester l'interaction entre deux protéines X et Y fusionnées respectivement à BD liant *bd* et AD, un activateur de la transcription. L'interaction entre X et Y permettait de reconstituer un facteur de transcription « hybride », venant se fixer sur *bd* (via BD) et activant le recrutement de l'ARNpol II (via AD) et donc la transcription de *LACZ*.

Sans compréhension du protocole, l'étude du reste de la figure 4A s'est souvent limitée à une simple description. Le jury rappelle qu'il est primordial de commencer l'étude par l'analyse des contrôles de l'expérience. Cet aspect a été fortement valorisé, cependant, une faible proportion des candidat.es l'a réalisée. On pouvait donc déduire de la figure 4A que CLOCK interagit avec BMAL1 et PER1.

Le principe de l'expérience de la figure 4B est similaire à celle de l'expérience 4A, on teste la capacité de protéines (i) à interagir avec différentes séquences d'acides nucléiques (*21-mer*) et (ii) à activer la transcription. Ainsi, seul le *21-mer a* permet la fixation de CLOCK, son interaction avec BMAL1-AD activant la transcription. A l'inverse, la protéine PER1 inhiberait tout ou partie de cette interaction. Il était, de plus, attendu de proposer des hypothèses quant à la manière dont PER1 peut inhiber cette interaction (Inhibition de l'interaction CLOCK-BMAL1 ou CLOCK-*21-mer a*).

Enfin, la figure 4C permettait de compléter cette analyse dans des cellules de Mammifères. On pouvait en déduire (i) que CLOCK et BMAL1 agissent de manière synergique, (ii) que la *boîte E* présente dans le promoteur de *PER1* est suffisante pour activer la transcription en présence de CLOCK et/ou BMAL1, mais (iii) que d'autres séquences sont également importantes. Les candidat.es devaient ici remarquer que la séquence de la *boîte E* est identique à une partie de la séquence du *21-mer a*. Peu de candidat.es ont su exploiter la figure 4C suffisamment en profondeur pour en extraire des informations complémentaires leur permettant de corroborer et renforcer leur modèle moléculaire.

Enfin, le jury attendait que les candidat.es fassent preuve d'imagination pour proposer des expériences contrôle complémentaires pertinentes et justifiées pour renforcer les conclusions déduites de la figure 4C. Cette question a été traitée par seulement 5 à 10% des candidat.es.

En conclusion, cette figure a été fortement discriminante dans la mesure où peu de candidat.es ont fait l'effort de réaliser une analyse méthodique et précise des résultats et de construire un modèle pas à pas. Certain.es y sont parvenu.es et le jury tient à les féliciter.

Question 5 - Les résultats présentés dans la figure 5 utilisaient la technique de l'ARN interférent pour étudier les interactions entre gènes. Ainsi, si la majorité des candidat.es en a bien déduit que *REV-ERB α* a un effet négatif sur l'accumulation des ARNm de *CLOCK*, très peu ont analysé le contrôle (siARN *ROR*) et encore moins ont conclu sur la spécificité du siARN utilisé.

Question 6 - Cette question invitait les candidat.es à faire un bilan schématique des informations déduites des documents précédents. Aucune indication précise n'était donnée quant à la réalisation

du schéma, en revanche, un maximum de détail était attendu, prouvant la bonne compréhension des phénomènes impliqués. Cette question s'est révélée très discriminante, car rares sont les candidat.es ayant réussi à synthétiser les informations recueillies lors des questions précédentes pour proposer un modèle intégratif. Bien souvent, les schémas manquent de détails et de précisions (séquence de fixation des facteurs de transcription non précisée, interactions protéine-protéine peu précises, gènes manquant, absence de lien avec l'activité locomotrice, ...). Plus grave, certain.es proposent des modèles fantaisistes voire totalement faux, allant à l'encontre des résultats expérimentaux et témoignant d'une absence de compréhension ou de recul par rapport aux expériences mises en œuvre (expression du gène *LACZ* dans les NSC, alors qu'il s'agit d'un gène rapporteur utilisé dans les expériences précédentes, *BMAL1-AD* et *CLOCK-BD* qui sont des constructions génétiques utilisées dans les expériences et non des gènes). Le jury rappelle que l'intégration des données et leur mise en relation est une compétence évaluée et fortement valorisée.

Question 7 - La figure 6 traitait de la synchronisation de l'horloge biologique avec le cycle nyctéméral, et du rôle particulier de la lumière. La figure 6A, bien que complexe, permettait d'extraire nombre d'informations, moyennant une analyse exhaustive et rigoureuse. Ainsi, l'expression de *PER1* et *CLOCK* suit une alternance journalière en opposition de phase. On apprend également que l'expression de *PER1* est stimulée par *CLOCK* et que la lumière serait un facteur synchronisant. Les figures 6B et 6C allaient en ce sens et permettaient de confirmer que la lumière est bien un facteur induisant l'expression de *PER1*, et ce, avec un effet dose-réponse. L'analyse de cette figure est restée trop superficielle, souvent sans présenter les faits les plus simples (périodicité de 24 h), et quasiment aucun.e candidat.e n'en a extrait l'ensemble des informations possibles. De plus, les conclusions énoncées ne tenant pas compte de l'ensemble des conditions testées, elles s'avèrent souvent erronées.

Question 8 - L'exercice changeait d'échelle et s'intéressait à l'expression des gènes de l'horloge biologique dans les NSC et les hépatocytes. La figure 7A a été relativement bien analysée mais très peu interprétée. Elle permettait (i) de déterminer que l'expression périodique de *PER1* dans les hépatocytes présente des similitudes avec celle dans les NSC et (ii) que cette périodicité peut être maintenue indépendamment de toute interaction avec d'autres cellules dans les NSC, ce qui n'est pas le cas dans les hépatocytes en culture *in vitro*.

La question 8b demandait de prendre du recul sur l'expérience et d'en identifier les avantages et les inconvénients. Le jury salue la bonne réflexion des candidat.es à ce sujet.

Enfin, les figures 7C, D et E permettaient de faire le lien entre température corporelle et expression des gènes de l'horloge biologique : *PER1* et *BMAL1*. La figure 7C montre une variation selon un cycle nyctéméral de la température corporelle, suggérant un contrôle de sa périodicité. Enfin, d'après l'analyse combinée des figures 7D et 7E, la température est un signal permettant de moduler l'expression de *PER1* et *BMAL1* dans les hépatocytes, vraisemblablement, selon un cycle de 24 h.

La question 8d invitait à faire la synthèse des informations déduites de la figure 8 pour proposer un modèle explicatif liant les NSC aux hépatocytes. Le jury tient à féliciter les quelques candidat.es qui ont su faire preuve de recul et d'esprit de synthèse pour proposer des modèles pertinents et argumentés impliquant notamment les variations de la température corporelle.

Question 9 - L'analyse de la figure 8 ne posait pas de difficulté. La majorité des candidat.es ayant traité cette question ont remarqué la corrélation (et il ne s'agit que d'une corrélation) entre la teneur en glycogène du foie et l'expression des deux enzymes contrôlant sa synthèse et sa dégradation. Néanmoins, peu ont fait le lien entre ces événements et l'activité du rongeur ou ont mené une analyse suffisamment précise pour proposer une succession temporelle des différents événements. Tenant compte de ces éléments, les candidat.es pouvaient ensuite les replacer dans le contexte général du sujet et proposer un lien avec l'horloge biologique des Mammifères. Cette question demandait une grande capacité d'intégration, de recul et de réflexion que très peu ont su mettre en œuvre.

Question 10 - Cette question était la suite de la question 6, elle invitait les candidat.es à compléter leur schéma en utilisant les informations qu'ils.elles venaient d'obtenir. Sans difficulté particulière, elle permettait de valoriser les candidat.es ayant compris et intégré les données déduites des figures. Le jury s'étonne que des candidat.es ayant traité (même partiellement) les questions 7, 8 ou 9 n'y aient pas répondu.

3) ELEMENTS DE CORRECTION DE LA PARTIE C

Cette partie avait pour but d'étudier les rythmes biologiques de la sécrétion d'hormones, les glucocorticoïdes, et leur importance tant à l'échelle moléculaire qu'à l'échelle de l'organisme, chez les Mammifères.

Question 1 - La technique a été globalement bien comprise ; néanmoins les explications ont trop rarement eu recours à des notions biochimiques précises telles que la compétition ou l'affinité. Par ailleurs, le graphique a fréquemment été lacunaire (légende des axes et valeurs minimale et maximale, comportement de la courbe pour une quantité d'hormone froide nulle, ou au contraire très élevée).

Question 2 - Une analyse *approfondie* de la figure 1 permet d'extraire trois informations: (i) la concentration plasmatique en GC varie chez les Mammifères étudiés au cours des 24 h (ce qui n'est pas une évidence *a priori* et qui mérite donc d'être mentionné en l'état) ; (ii) elle augmente au cours de la nuit et diminue au cours de la journée chez l'Homme (espèce diurne) et on observe le patron inverse chez le rongeur (espèce nocturne), les amplitudes et repères temporels devant être précisés ; (iii) en plus de ces variations globales au cours des 24 h, on note des oscillations à une échelle de temps beaucoup plus courte.

L'analyse de cette première figure devait être particulièrement soignée. En effet, il était précisé qu'elle servait de base aux deux sous-parties suivantes. Il est ainsi fortement regrettable que l'observation (iii) n'ait quasiment jamais été réalisée, alors qu'elle justifiait l'étude à l'échelle moléculaire dans la sous-partie 1.

La question 2)b. faisait référence à l'observation (ii) : le réveil de l'animal ayant lieu dans les deux cas peu de temps après que la concentration plasmatique en GC soit maximale, la reprise de la phase d'activité sera possible avant même d'avoir pu se nourrir, grâce à une augmentation de la concentration sanguine en substrats énergétiques.

Question 3 - Les figures 2 et 3 ne présentaient pas de difficulté particulière mais une **comparaison de la figure 3B avec la figure 1** était attendue pour montrer que l'insertion d'un implant sous-cutané ne modifiait pas la variation de la concentration plasmatique en GC aux temps 7 h, 14 h, 21 h et 24 h par rapport à un animal sans implant. De manière surprenante, l'interprétation de la figure 3C, qui nécessitait simplement de **s'appuyer de manière logique sur les informations données par l'énoncé**, a posé problème à un certain nombre de candidat-e-s, ne prenant sans doute pas le temps nécessaire pour y réfléchir posément.

On pouvait analyser et interpréter la figure 3 de la manière suivante : A) dans les deux groupes, la même quantité de GC est délivrée quotidiennement ; ceci peut s'expliquer par le fait que l'implant imprégné de GC supprime la sécrétion endogène de l'hormone, ou par le fait que l'implant ne fonctionne pas ou enfin qu'il délivre une quantité de GC très faible devant la quantité endogène sécrétée. B) on retrouve pour le groupe C les variations de la concentration en GC déjà observées dans la fig.1 ; en revanche, la concentration est constante chez les rongeurs du groupe I ; l'implant imprégné de GC semble donc abolir les variations temporelles de la concentration plasmatique en GC, ce qui va dans le sens de la première hypothèse émise en A) ; cela peut sembler logique car l'hormone est délivrée en continu par l'implant. C) : au bout de 9 jours, la masse du thymus est plus faible (barres d'erreur non chevauchantes) dans le groupe C que dans le groupe I. Or il est dit que le thymus est un organe riche en lymphocytes, et que GC inhibe la prolifération de ces cellules. On peut donc émettre l'hypothèse que la masse du thymus dépend du nombre de lymphocytes T qu'il renferme, et donc de leur prolifération. On peut alors supposer que GC a un effet plus faible dans le groupe I que dans le groupe C ; il inhibe donc moins la prolifération des lymphocytes, ce qui se traduit par une masse du thymus plus faible.

Conclusion : même si la quantité journalière de GC délivrée est identique, le fait que GC soit en concentration constante dans le plasma du rongeur semble diminuer son effet physiologique ; la variation temporelle de la concentration en GC serait donc importante pour son effet sur ses cellules cibles.

Peu de candidat-e-s ont pu formuler cette conclusion simple mais qui était au cœur de l'étude. La plupart des copies se sont contentées d'une simple analyse de la figure, sans interprétation des différences (ou similarités) observées.

Question 4 – La technique présentée est une **hybridation *in situ*** permettant de révéler la présence d'un ARN_m d'intérêt au sein d'une coupe histologique grâce à une sonde nucléotidique complémentaire radioactive. Le jury s'inquiète de la grande proportion de candidat-e-s n'envisageant absolument pas la présence de multiples molécules d'ARN_m issues de la transcription du gène cible au sein des cellules et préférant imaginer une fixation de la sonde sur l'unique brin d'ADN lui étant complémentaire, grâce à une ouverture de la double hélice au moment même de la transcription du gène.

Par ailleurs, si cette explication permettait quand même d'évaluer l'effet d'un pic de GC sur la transcription de son gène cible dans les deux groupes de rongeurs, l'interprétation et la conclusion de la figure 4B ont, comme pour la figure 3, été le plus souvent inexistantes. On pouvait pourtant attendre les idées suivantes : la réponse transcriptionnelle à un pic de GC est perturbée lorsque l'implant délivre GC en continu depuis plusieurs jours ; cela explique peut-être la diminution de l'effet physiologique de l'hormone observée figure 3C.

Question 5 – La figure 5B permet d'évaluer grâce à un Western blot la quantité de GC-R dans les cellules de rongeurs du groupe I et du groupe C. La tubuline α est une protéine dont l'expression ne varie pas au sein des cellules. On voit qu'elle est présente avec la même intensité pour chacune des pistes sur le Western blot : on a donc déposé la même quantité d'extrait cellulaire dans les deux puits (témoin de charge). Toute différence d'intensité visible pour la bande correspondant à GC-R pourra donc s'expliquer par une variation de la concentration de cette dernière dans les cellules. Ainsi, la bande étant plus faible dans la condition I, on en déduit que la présence de l'implant pendant 8 jours entraîne une diminution de la quantité de récepteur à l'hormone.

Question 6 – BILAN : dans le groupe contrôle, la concentration en GC varie au cours des 24h ; la localisation basale du récepteur (en absence de pic hormonal) est majoritairement cytosolique ; en réponse à un pic hormonal, GC-R est transloqué dans le noyau et on observe une hausse de la quantité d'ARNm de gènes cibles de l'hormone; on peut donc supposer que l'hormone exerce son effet transcriptionnel via une action de GC-R au sein du noyau, localisation possible une fois que l'hormone s'y est fixée.

Dans le groupe possédant un implant délivrant en continu GC, on observe une quantité journalière d'hormone identique mais une abolition de la variation temporelle de sa concentration plasmatique ; la quantité de GC-R au bout de 8 jours est plus faible et sa localisation basale modifiée (nucléaire) ; un pic hormonal n'entraîne pas de modification de la localisation de GC-R ni une hausse de la quantité d'ARNm issu d'un gène cible.

Ainsi, une quantité constante d'hormone pendant plusieurs jours entraîne vraisemblablement la dégradation d'une partie des molécules de GC-R ou une baisse de leur synthèse ; elle stimule également la localisation nucléaire de GC-R de manière constante ; néanmoins, elle semble abolir l'effet de GC-R sur la transcription en réponse à un pic d'hormone, ce qui peut sembler paradoxal ; il était possible de proposer plusieurs hypothèses permettant d'expliquer ces résultats ; ceci pourrait être par exemple dû au *plus faible nombre* absolu de récepteurs dans la cellule ou à un *dysfonctionnement* des récepteurs, pourtant localisés dans le noyau.

Question 7 – Conclusion : la présence de l'hormone entraîne la translocation de GC-R dans le noyau et sa fixation à GRE ; peu de temps après la diminution de la concentration en hormone, GC-R reste dans le noyau mais ne se lie plus au GRE ; on peut supposer que la conformation du récepteur est différente selon que l'hormone y est fixée ou non et que cela modifie sa capacité à interagir avec la séquence d'ADN GRE.

Question 8 – GRE pourrait être une séquence régulatrice de la transcription de type **enhancer**; la fixation de l'hormone sur GC-R entraînerait sa relocalisation dans le noyau et une conformation lui

permettant d'interagir avec GRE ; ceci entraînerait une courbure de l'ADN permettant de stimuler la constitution du complexe d'initiation de la transcription comprenant les facteurs de transcription généraux et l'ARN Pol II. GC-R pourrait également être un **facteur de transcription spécifique** se fixant sur une séquence GRE incluse dans le promoteur des gènes cibles. Dans les deux cas, le taux de transcription des gènes cibles de l'hormone augmenterait.

Questions 9 et 10 – Les figures 7 et 8 présentaient les résultats d'**expériences de FRAP** (*fluorescence recovery after photobleaching*) ; lorsque les molécules présentes dans la zone éclairée par le laser sont définitivement photo-blanchies, une réapparition de fluorescence dans cette même zone ne peut s'expliquer que par leur remplacement par des molécules GFP-GC-R qui n'y étaient pas initialement. On étudie donc la **mobilité** (turnover et diffusion) des molécules de GFP-GC-R au niveau du GRE ou d'une zone quelconque du noyau.

La figure 7 montre que dans les deux zones, les échanges de molécules sont possibles puisque la fluorescence relative réaugmente jusqu'à un même niveau, un peu inférieur à 1. Néanmoins, cette réaugmentation est plus lente au niveau du GRE que dans la zone quelconque : on peut émettre l'hypothèse que GC-R-GFP en présence de GC interagit durablement avec GRE (les molécules photo-blanchies ne quittent pas rapidement GRE, et mettent donc plus de temps à être remplacées), permettant l'établissement du complexe d'initiation de la transcription.

La figure 8 montre que suite à un pic de GC et au photoblanchiment, le remplacement des molécules GFP-GC-R au niveau du GRE est plus lent pour les cellules traitées pendant plusieurs jours avec GC infusée de manière pulsatile que pour celles traitées de manière continue. On peut donc en déduire que l'interaction de GFP-GC-R avec GRE induite par un pic de GC est moins durable après un traitement continu avec de l'hormone que lorsque les cellules ont été traitées de manière pulsatile ; on peut supposer que l'interaction sera moins « productive », c'est-à-dire moins capable de stimuler l'initiation de la transcription.

Question 11 - Il était demandé aux candidat-e-s d'expliquer l'importance fonctionnelle des variations journalières de la concentration en GC. Les figures précédentes ont permis de mettre en évidence que la pulsativité de la concentration plasmatique en GC chez le rongeur est capitale pour l'effet de l'hormone ; en effet, un traitement continu (avec des quantités pourtant similaires sur 24h) diminue la quantité de récepteur dans les cellules cibles, perturbe sa localisation basale, sa translocation en réponse à l'hormone, et son interaction avec la séquence GRE qui permet de stimuler la transcription des gènes cibles de l'hormone ; ceci se traduit vraisemblablement à l'échelle physiologique par une diminution de l'effet de l'hormone sur la prolifération des LT entraînant une élévation de la masse du thymus. Le jury tient à souligner les limites de cette analyse qui s'appuie sur les résultats de deux études très différentes, (notamment *in vivo* et *in vitro*), pour formuler un seul modèle.

Sous-partie 2 : chronothérapie

Question 12 – L'analyse et l'interprétation des figures 10A et 10B permettait de montrer que le moment d'administration du médicament a bien une influence sur son effet : il est plus efficace (il limite à la fois la prolifération et la migration des cellules cancéreuses) lorsqu'il est administré le matin.

Question 13 – La question 13 interrogeait les candidats sur le protocole mis en place pour évaluer l'effet de l'EGF et de GC sur la migration des cellules cancéreuses. Une réflexion sur l'expérience menée devait conduire les candidat·e·s à proposer une évaluation de l'effet de GC seul sur la migration, ainsi que de l'effet de la transfection des cellules par un siARN, quel qu'il soit (transfection par un siARN dirigé contre une cible absente de ces cellules). Par ailleurs, la figure 10 montrait que l'EGF stimule la migration des cellules, et que cet effet est diminué en présence de GC et de son récepteur GC-R.

Question 14 – L'analyse globale de la figure 11 montrait que, par rapport à l'ajout de l'EGF seul, l'ajout d'EGF en présence de GC conduit à une plus forte transcription des inhibiteurs de la voie EGF et une moindre transcription des activateurs, ce qui pourrait expliquer la diminution des effets d'EGF sur la migration des cellules.

La question 14)b. incitait ensuite les candidat·e·s à proposer une expérience permettant de démontrer ce lien de causalité : GC inhiberait bien l'augmentation de la migration cellulaire due à la présence d'EGF *via* un effet sur la transcription des gènes codant des régulateurs de la voie de signalisation de l'EGF. Toute proposition pertinente d'expérience a été valorisée. A titre d'exemple, on pouvait proposer de modifier la séquence de fixation de GC-R dans le promoteur des gènes régulateurs de la voie de signalisation de l'EGF, et de réitérer avec ces cellules, l'expérience de migration soit en présence d'EGF, soit en présence d'EGF et de GC.

La question 14)c. permettait aux candidat·e·s de réfléchir à la limitation de l'effet d'un messenger dans le temps.

Question 15 – L'analyse de la figure 12 montrait qu'*in vivo*, les ARNm codant les activateurs de la voie de l'EGF s'accumulent pendant le jour, alors que ceux codant les inhibiteurs s'accumulent la nuit. Une hypothèse pourrait être que, la concentration en GC étant maximale chez la souris en début de période sombre, cela stimule la transcription des gènes inhibiteurs et inhibe celle des gènes activateurs, et l'inverse en période lumineuse.

Question 16 – La question 16 demandait aux candidat·e·s d'exploiter les données des figures 1, 10, 11 et 12 pour interpréter les résultats de la figure 9 et d'en tirer des conséquences pour l'utilisation en thérapie humaine. L'étude présentée a permis de montrer que l'effet du Lapatinib est plus important s'il est administré le matin ; or, le matin, la concentration en GC est minimale, donc exerce un effet inhibiteur minimal sur la voie de signalisation en aval de l'EGF. C'est donc le matin que celle-ci est la plus active et sera donc la plus à même de stimuler la prolifération des cellules ; à l'inverse si l'on administre le médicament le soir, son effet sera faible car les effets du récepteur à l'EGF sont déjà diminués par la forte concentration en GC. Chez l'Homme, la variation au cours du temps de la concentration plasmatique en GC est inversée par rapport aux rongeurs. Si l'on suppose que les résultats précédents sont transposables à l'Homme, il faudrait donc administrer le Lapatinib le soir, quand la concentration en GC est au plus bas, et donc que le récepteur à l'EGF est le plus actif.