

RAPPORT SUR L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOLOGIE

Coefficients de l'épreuve (en pourcentage du total d'admission, modifiés pour tenir compte de l'absence d'oraux pour les ENS à la session 2020) :

ENS Paris-Saclay : 41,0%

ENS de Lyon : Option biologie : 35,3% - Option ST : 23,5%

ENS Paris : Option biologie : 35,0% - Option ST : 20,0%

ENPC : 7,5%

Membres du jury :

G. Barthole, A. Bessis, E. De Tredern, M. Gendrel, G. Lepère, A-C. Marsollier, M. Monniaux, D. Prévôt, C. Richetta

L'épreuve de biologie de la session 2020, d'une durée totale de 6h, proposait aux candidates et aux candidats¹ d'étudier les divisions cellulaires sous différents aspects. Le sujet de synthèse (partie A) d'une durée conseillée de 2h traite des divisions cellulaires en général. Deux études de documents indépendantes (parties B et C) traitent d'une part du point de contrôle de la position du fuseau mitotique et d'autre part des recombinaisons génétiques durant la méiose.

La quasi-totalité des candidats ont abordé les trois parties, souvent de manière inégale. Les quelques candidats n'ayant pas traité le sujet de synthèse ont, de fait, été fortement pénalisés. Le jury salue la très grande qualité des copies qui ont su faire preuve de synthèse et de rigueur dans leur appréhension des différentes thématiques.

SUJET DE SYNTHÈSE : Les divisions cellulaires

L'épreuve de synthèse permet d'évaluer les capacités de **communication, de rédaction** et d'**argumentation scientifique**. Le sujet proposé est proche des attendus du programme mais demande une compréhension solide et approfondie des notions sous-jacentes pour en faire une synthèse organisée. Le sujet ne se limite pas aux aspects cellulaires ou moléculaires des processus mitotiques et méiotiques, une intégration à l'échelle des tissus et de l'organisme était requise et les conséquences écologiques et évolutives peuvent être abordées. Ce sujet nécessite donc une sélection rigoureuse des informations pertinentes.

¹ Ce concours s'adresse à toutes et tous mais afin d'alléger l'écriture de ce rapport, nous emploierons par la suite le masculin

1. Attendus et contenu

Délimitation du sujet

Une part essentielle du sujet s'appuie sur la partie II-D « Réplication de l'information génétique et mitose », IV-B « Cycle cellulaire, mitose et répartition du matériel génétique » et IV-C « Brassage génétique et diversification des génomes ». Cependant, des connaissances en développement (tant animal que végétal) en écologie ou en évolution ainsi que des notions abordées en TP doivent être réinvesties pour aborder le sujet dans son intégralité.

La division cellulaire est l'acte de séparer une cellule (dite mère) en plusieurs cellules (dites filles). Les cas limites de cette division peuvent être évoqués (comme la formation d'un syncytium) ; en revanche la structure de l'ADN, l'expérience de Meselson et Stahl ou le mécanisme de réplication retrouvés dans de nombreuses copies sont hors-sujet (car précédant la division cellulaire au sens strict).

Trois aspects essentiels doivent être développés : (i) les modalités des divisions cellulaires, (ii) le contrôle temporel et spatial de ces divisions et (iii) leurs rôles et importance biologique à toutes les échelles. Sans forcément constituer un plan ou une progression, ces trois axes de lecture permettent d'aborder l'ensemble du sujet.

Notions attendues

Pour les deux grandes modalités de division cellulaire, la mitose et la méiose, il est attendu que soient présentées les différentes phases avec des précisions sur la répartition du matériel génétique et le rôle du cytosquelette. Le jury a noté une confusion flagrante entre processus mitotique et méiotique (séparation des chromatides versus séparation des chromosomes homologues) dans au moins une copie sur dix, ce qui a fortement pénalisé certains candidats.

La description du cycle cellulaire dans son intégralité n'est pas requise, mais le positionnement des divisions dans celui-ci apporte un éclairage sur leur contrôle spatio-temporel. Le contrôle temporel et spatial des processus mitotiques et méiotiques peuvent être abordés chez les Angiospermes et les Métazoaires à l'aide des parties « Développement » et « Reproduction » du programme. Les rares copies qui ont évoqué quelques éléments mécanistiques pour expliquer ces contrôles ont été valorisées.

L'importance biologique de la méiose est abordée dans la quasi-totalité des copies, avec des niveaux de précision variables, via les brassages inter- et intra-chromosomiques ; en revanche l'importance de la mitose est souvent omise alors que c'est un mécanisme fondamental à la base du développement des pluricellulaires ou de la reproduction asexuée. Les conséquences écologiques et évolutives de ces deux modes de division ont rarement été évoquées, même si aucun développement d'envergure n'est attendu.

La partie moléculaire et cellulaire du sujet fait l'objet d'une monographie dans le programme, elle a été bien traitée dans de nombreuses copies tant sur la mitose que la méiose. En revanche, le contrôle temporel et spatial, qui demande un travail de synthèse important a été moins fréquemment abordé et souvent traité de manière parcellaire.

En conclusion, le jury aurait souhaité une prise de recul plus importante sur le sujet afin qu'il soit envisagé à une échelle plus large et plus intégrée.

2. Forme et méthode

Rigueur, vocabulaire et rédaction

Le plan du développement doit être apparent et les titres des paragraphes doivent refléter la progression du plan et être précis, de manière à être adaptés à leur contenu. Par ailleurs, la biologie possède un **vocabulaire précis et spécifique** pour désigner chaque élément, structure, phénomène ou concept. Il est donc primordial de veiller à la **justesse du vocabulaire** utilisé (confusions centromère et centrosome, unicellulaire et bactérie, télophase et cytodierèse etc). Il est à noter que la syntaxe et l'orthographe ont été plutôt satisfaisantes.

Introduction et plan

L'introduction doit replacer le sujet dans un contexte plus large et l'explicitier pour arriver à dégager une problématique qui donne le fil directeur du développement et justifie le plan annoncé. Elle doit être composée : (i) d'une remise en contexte, (ii) d'une explicitation du sujet avec définition des termes importants, (iii) d'une délimitation précise et justifiée du sujet, (iv) d'une problématique et (v) de l'annonce du plan.

Le **cadre général** posé au début de l'introduction doit être plus large que celui du sujet. Il peut s'appuyer sur des exemples, des faits concrets ou théoriques (par exemple une pathologie affectant la division cellulaire) et éveille la curiosité du lecteur. Il amène progressivement à définir les termes du sujet.

La **définition des termes** (ici division et cellulaire) doit être précise et approfondie car elle conditionne la délimitation du sujet, c'est-à-dire ce qui sera traité ou non dans le développement. Le terme « division » fait référence à l'acte de séparer quelque chose en plusieurs parties ; le terme « cellulaire » précise que la chose à laquelle on s'intéresse est la cellule, qui est l'unité structurale et fondamentale du vivant. Malgré cela, trop peu de candidats ont fait l'effort de définir précisément ces termes et se sont contentés d'annoncer les termes de mitose et de méiose, parfois de cycle cellulaire qui est hors-sujet, sans toujours les définir.

La **délimitation du sujet** était alors aisée dans le sens où seules la séparation d'une cellule en plusieurs doit être abordée ; la structure de l'ADN ou les processus de réplication de l'ADN sont par exemple exclus.

La **problématique** doit être exposée sous forme de question (une ou plusieurs) explicite à laquelle le développement s'efforcera de répondre. Elle doit donc envisager l'ensemble des aspects du sujet et préparer l'annonce du plan qui suit. « Quels sont les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-tendant les divisions cellulaires ? Quelle est l'importance de ces mécanismes et de leurs contrôles spatio-temporels dans la physiologie des organismes ? » Une problématique du type « Quelle est l'importance des divisions dans la vie cellulaire ? » n'a que peu de sens et ne recouvre pas l'entièreté du sujet. De plus, elle doit soulever un problème qui sera le fil directeur du développement, une problématique du type « on va voir tout ce qui concerne les divisions cellulaires » ne permet pas de construire une progression logique.

Enfin, l'**annonce du plan** permet de dresser les grandes lignes de la progression qui sera suivie dans le développement. Des plans opposant mitose et méiose ou séparant le devenir du matériel génétique et le rôle du cytosquelette manquent de cohérence et de logique et pénalisent les candidats qui se répètent tout au long du développement ou passent sous silence des liens importants.

Le jury rappelle donc que la réflexion préalable donnant lieu à la rédaction de l'introduction doit être particulièrement travaillée, de manière à ce que **la problématique comme le plan soient réfléchis** pour pouvoir proposer un discours cohérent et construit.

Fil conducteur et progression logique du raisonnement

L'objectif d'un devoir de synthèse est de **produire un raisonnement** qui par une **progression logique et argumentée** réponde au sujet proposé. Ainsi, tout élément exposé doit être très clairement relié au sujet, ainsi qu'aux éléments le précédant et le suivant. Il est donc primordial de soigner l'ordre dans lequel les différents concepts sont abordés et les transitions entre chacun d'eux. Par exemple, la présentation juxtaposée des mécanismes de méiose et de mitose n'a que peu d'intérêt, il est plus judicieux de présenter les mécanismes communs et les éléments spécifiques ou de comparer les processus de manière à donner du sens au raisonnement. Le jury invite également les candidats à ne pas dévier de leur ligne directrice, et à **ne pas s'égarer dans des digressions** sans lien avec le sujet (Ex : présentation des différentes étapes du développement animal) ou anticipant une étape ultérieure du raisonnement. Pour gagner en cohérence dans le développement, les transitions gagneraient à être plus travaillées pour ne pas se résumer à « on a vu ceci et on va maintenant voir cela. »

Démarche scientifique et expérimentale

La démarche scientifique, hypothético-déductive, n'est que trop rarement utilisée. Or de nombreuses mises en évidence expérimentales simples, basées sur l'observation, sont possibles, notamment celles utilisant la microscopie optique ou confocale, avec ou sans marquages fluorescents. De la même manière, des expériences tirées des études développementales peuvent illustrer le contrôle spatial et temporel des divisions. La biologie est une science expérimentale qui s'appuie sur l'observation. Se limiter à un exposé théorique et une accumulation de notions et de modèles ne peut que diminuer l'impact des démonstrations. Il est donc important que la démarche expérimentale apparaisse dans cette épreuve ; elle est fortement valorisée par le jury.

Exemples et illustrations

Le jury félicite les candidats qui utilisent des exemples et illustrations pour étayer leur discours et leurs idées (Exemple de dihybridisme avec 2 caractères comme la forme et la couleur des pois de Mendel pour illustrer le brassage intra- et inter-chromosomique). Attention toutefois car un exemple peu précis ou juste évoqué ne permet souvent pas de soutenir un raisonnement.

Par ailleurs, des exemples chiffrés (ordre de grandeur) de taille des cellules ou des chromosomes, de durée des phases, de vitesse de division etc sont rarement énoncés alors qu'ils sont nécessaires pour rendre la démonstration précise.

Les figures sont globalement de bonne qualité. Nous rappelons qu'elles doivent comporter un titre et une légende explicite. Elles doivent être soignées et illustrer précisément la notion présentée. Il est souvent peu opportun de réaliser un schéma de cours sans l'adapter au sujet. Par exemple, réaliser un schéma de méristème à l'échelle des organes n'informe pas le lecteur sur les processus mitotiques à l'œuvre et leur localisation, une échelle plus précise ou une légende plus complète est requise. De même, pour matérialiser les différentes étapes d'un processus, l'utilisation de flèches ou de numéros est une solution souvent pertinente.

Conclusion

Toute conclusion doit comporter un bilan des idées essentielles développées dans toutes les parties de l'exposé et surtout répondre à la problématique énoncée en introduction. Trop peu de conclusions y répondent et se contentent bien souvent de paraphraser les grandes idées énoncées en introduction sans mettre en exergue les avancées conceptuelles réalisées durant le développement. Enfin, la conclusion propose un élargissement du sujet pour dépasser les limites fixées en introduction ou proposer des applications.

ANALYSE DE DOCUMENTS

1. Remarques et conseils méthodologiques

Les parties B et C permettent 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 cohérentes
- (4) les capacités à mener une **réflexion argumentée sur les phénomènes biologiques** mis en évidence et à **proposer des hypothèses pertinentes** permettant de les expliquer

Il s'ensuit que **la simple description des figures ne suffit pas** pour réussir ces exercices. On ne peut espérer comprendre les phénomènes biologiques étudiés dans ces documents en n'analysant les figures que partiellement, et en concluant sans prendre en compte l'ensemble des informations présentées. Passer d'une figure à l'autre sans jamais dépasser le stade de la description comme c'est le cas dans beaucoup de copies, ne permet pas au jury d'évaluer les compétences mentionnées ci-dessus.

Par ailleurs, le jury attire l'attention sur la nécessité de **comprendre la question biologique et les expériences** décrites pour pouvoir exploiter les résultats obtenus, sans quoi l'analyse et l'interprétation des figures sont souvent partielles et erronées et donc inutiles. Il est donc indispensable pour les étudiants 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 félicite les candidats qui ont fait preuve de persévérance dans la compréhension et l'élucidation d'une des analyses de document proposées. Il déplore en revanche qu'un certain nombre de candidats ait choisi de parcourir l'ensemble des questions à la recherche de points « faciles » et ait abandonné les questions demandant de la réflexion ou une synthèse, question bien souvent clef pour la

compréhension du phénomène étudié. Cette stratégie ne permet pas de réussir une telle épreuve car le barème valorise fortement les compétences (2), (3) et (4) susmentionnées. L'épreuve a donc été discriminante car bien que la majorité des candidats ont abordé les parties B et C peu ont réussi à construire au moins un modèle cohérent et argumenté pour l'une d'entre-elles.

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 candidats se préparant à cette épreuve, le jury souhaite donc rappeler ici quelques conseils méthodologiques :

- **Lire attentivement l'énoncé.** L'énoncé comprend le texte, mais aussi les légendes des figures. Il contient les informations essentielles à la compréhension des documents et pose l'objectif de chaque expérience. *Par exemple, dans la partie B, l'énoncé mentionne que le mutant dyn1 est un mutant présentant une mauvaise orientation du fuseau mitotique. Cette information est donc une donnée de l'énoncé, qui peut se vérifier dans les expériences, mais non l'élément sur lequel il convient de conclure, l'objectif étant ici d'étudier la protéine Kin4.*

- **Comprendre les expériences réalisées.** Lorsque le principe des expériences n'est pas supposé connu par les candidats, il est rappelé dans l'énoncé. Le candidat doit alors comprendre la question biologique posée et le principe de l'expérience réalisée avant de se lancer dans l'analyse des résultats. *Dans la figure 6 de la partie B, plusieurs westerns blot sont présentés, mais ils résultent de protocoles variés permettant d'atteindre des objectifs différents. Ils ne s'interprètent donc pas tous de la même manière ; le panel C permet notamment de conclure sur l'interaction entre la forme non phosphorylée de Bfa1 et Tem1.*

- **Analyser les documents de manière détaillée et précise** en s'appuyant sur la légende : il convient de comparer les conditions deux à deux, de décrire les variations temporelles, de décrire précisément les images de microscopie, d'analyser et de comparer les grandeurs des paramètres mesurés, de s'interroger sur la significativité des différences observées, enfin, de s'intéresser à l'ensemble des données présentées dans la figure. *Dans la figure 1 de la partie C, la notion de colocalisation entre marquages SYCP1, SYCP3 et ADN a été trop peu mentionnée, la comparaison du double marquage SYCP1/SYCP3 et du marquage ADN rarement formalisée. Même s'il s'agit d'un raisonnement simple, il se doit d'être explicite.*

- **Utiliser un vocabulaire précis et adapté.** Dire qu'un facteur « agit sur », « influence » ou « a un rôle dans » n'a pas la même signification que « active » ou « inhibe » ou « interagit avec ». Le jury accorde une grande importance à la rigueur scientifique et au choix des termes utilisés. *Par exemple, dans la question 4b de la partie B, dire que la protéine Lte1 agit sur Kin4 n'est pas aussi précis que la protéine Lte1 inhibe l'activité de Kin4.*

- **Réaliser des schémas complets.** Tout schéma doit être légendé, titré et explicité : un schéma non compréhensible par le jury ne peut pas être valorisé. *Ainsi, les schémas demandés aux questions 5 et 8 (partie B) devaient donner la signification des flèches représentées (effet direct, indirect, démontré ou hypothétique).*

- **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 appréhender le phénomène proposé. Le jury recommande de suivre **toutes les étapes** du schéma classique suivant : **(1) analyse des résultats en commençant par les témoins, (2) interprétation des résultats, (3) conclusions** (notamment s'il y a plusieurs sous-figures) et éventuellement **(4) énoncé d'hypothèses explicatives**. *Par exemple, figure 6 (partie B), analyser la figure 6A puis 6B pour aboutir à la conclusion partielle que Bfa1 est phosphorylée pendant l'anaphase permet d'utiliser cette information pour exploiter plus efficacement les figures suivantes.* Il est essentiel d'analyser correctement 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.

- **Proposer des hypothèses explicatives mais veiller à les différencier des conclusions (en les mentionnant au conditionnel notamment) et à les justifier.** Si le jury encourage les candidats 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. De plus, lorsqu'il est demandé de proposer des hypothèses (Questions 1, 2c, 5 de la partie C), celle-ci doivent être justifiées sur la bases d'arguments et de données issus des connaissances des candidats, des données de l'énoncé ou des conclusions tirées des résultats et non reposer sur une intuition.

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 partie C, pour expliquer les mécanismes moléculaires à l'origine des cassures double brin de l'ADN, plusieurs hypothèses sont envisageables : SPO11 est une endonucléase, SPO11 est une exonucléase, SPO11 recrute des endonucléase et exonucléase.*

- **Intégrer l'ensemble des données apportées par les différentes figures dans un modèle général qui doit être construit tout au long de l'exercice.** Les sujets sont conçus pour permettre aux candidats, de proposer une vision d'ensemble du mécanisme étudié en faisant la synthèse de leurs interprétations successives. Sauf cas particulier (ou mentionné), les figures ne sont pas indépendantes les unes des autres. Certaines questions, en général à la fin de chaque partie, incitent à un effort de synthèse (questions 5 et 8 partie B, questions 3c et 6c partie C) qui ne doit pas se limiter à résumer la question précédente. Le jury 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 apparaissent, ce qui est parfaitement possible lors de raisonnements scientifiques, le jury valorise le fait qu'elles soient commentées de manière pertinente.

- **Maîtriser les techniques de base de biologie**, tant dans leur protocole que dans leur principe. Le principe de l'électrophorèse dénaturante (et non dénaturante) et sa finalité sont mal maîtrisés tout comme le rôle du témoin de charge qui doit par ailleurs être analysé, et non pas simplement évoqué (cf. correction de la question 6 de la partie B). Le **vocabulaire spécifique** des techniques est souvent aussi approximatif : *par exemple, dans les électrophorèses et western blot, 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 déchiffrables et compréhensibles. 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.

2. Eléments de correction de la partie B

Cette partie a pour objectif d'étudier un point de contrôle de la position du fuseau mitotique chez la levure *S. cerevisiae* et en particulier les processus régulateurs mis en jeu lors d'une mauvaise orientation du fuseau. Il est ainsi possible de mettre en évidence le rôle clef de la protéine Kin4 qui en cas de mauvaise orientation du fuseau bloque la sortie d'anaphase. En mêlant des approches génétiques et biochimiques, on peut reconstruire l'ensemble du réseau de régulation contrôlant la transition anaphase – télophase et *in fine* conclure sur son fonctionnement dans le cas d'un fuseau correctement positionné ou non.

Question 1 – L'analyse de la figure 1 repose sur la quantification de trois catégories de phénotypes, dans différentes conditions, qu'il convient dans un premier temps de caractériser. Le phénotype A est une situation normale quand le phénotype B correspond à une mauvaise orientation du fuseau qui conduit au phénotype C si l'anaphase a lieu. L'étude de la figure 1B permet de constater que le phénotype du mutant kin4 se révèle lorsque le fuseau mitotique est mal orienté (le mutant dyn1Δ est ici utilisé comme modèle d'étude) conduisant au phénotype C. La protéine Kin4 participerait donc à l'arrêt de la division en cas de mauvaise orientation du fuseau mitotique. Avec la figure 1C, on met en évidence l'existence d'un mécanisme de blocage de la division cellulaire en anaphase en cas de mauvaise orientation du fuseau mitotique. Sans difficulté, ce document nécessite cependant une analyse précise, rigoureuse et exhaustive des conditions présentées et une bonne compréhension de la question biologique posée. La majorité des copies ont conclu correctement mais leur analyse superficielle leur a été préjudiciable pour la suite des questions.

Question 2 – L'expérience de la figure 2 permet de préciser et compléter les conclusions précédentes en suivant la cinétique de la métaphase et de l'anaphase chez une levure sauvage et une levure mutante

surexprimant Kin4. L'absence de terminaison de l'anaphase chez ce surexprimeur permet de conclure que Kin4 inhibe la division des cellules, bloquant celles-ci en anaphase.

La figure 2B corrobore ces résultats par une autre méthode (suivi de la croissance des souches), montrant une croissance quasi-nulle de la souche surexprimeur. L'étude de ces figures ne présente pas non plus de difficulté, mais une lecture attentive de l'énoncé et une bonne compréhension de l'expérience réalisée (surexpression de Kin4 dépendante de la présence de galactose dans le milieu de culture) et une analyse précise des cinétiques est nécessaire. La condition expérimentale « milieu standard » est très souvent avancée pour compléter les données de la figure 3A, mais la justification est rarement donnée.

En conclusion, la protéine Kin4 bloquerait les cellules en anaphase et son action serait activée lorsque le fuseau mitotique est mal positionné ; ce rôle est essentiel pour empêcher l'apparition de cellules polyplôides ou sans matériel génétique nucléaire.

Question 3 – L'étude s'intéresse ensuite à l'action de Bfa1 sur une autre protéine de type GTPase, Tem1, impliquée dans la terminaison de l'anaphase. L'explicitation du protocole demandée en question 3a n'a que rarement été réalisée de manière précise et rigoureuse, un à plusieurs éléments d'argumentation manquant pour expliquer l'expérience réalisée. Ainsi, Tem1 lie le GTP radioactif qu'elle est capable d'hydrolyser en GDP + Pi radioactif (puisque le GTP est marqué sur le P γ), qui diffuse hors de la protéine. Tem1 est alors associée à de la radioactivité que si elle n'a pas encore hydrolysé le GTP ; on mesure donc (par l'intermédiaire de la radioactivité) la proportion de Tem1 active, capable d'activer la terminaison de la mitose.

L'analyse des courbes de la figure 3A permet ainsi de conclure que la protéine Bfa1 stimule l'hydrolyse du GTP lié à Tem1 (activité GTPase) et a donc un effet inhibiteur sur la poursuite de mitose au-delà de l'anaphase. Trop peu de candidats arrivent à cette conclusion, soit par une mécompréhension du protocole (cf supra), soit par une interprétation erronée (Bfa1 hydrolyse le GTP), soit par une conclusion qui se limite à l'effet de Bfa1 sur Tem1.

Question 4 - La figure 5 permet d'étudier les relations entre Kin4 et Bfa1, en lien avec deux autres acteurs Lte1 et Cdc5, et leurs rôles dans le contrôle de la mitose. Elle repose sur une approche génétique (utilisation de mutants et de surexprimeurs) et le suivi de croissance déjà présenté dans la figure 3. La question 4 décompose l'analyse de cette figure pour permettre aux candidats de construire progressivement un modèle moléculaire (demandé en question 5).

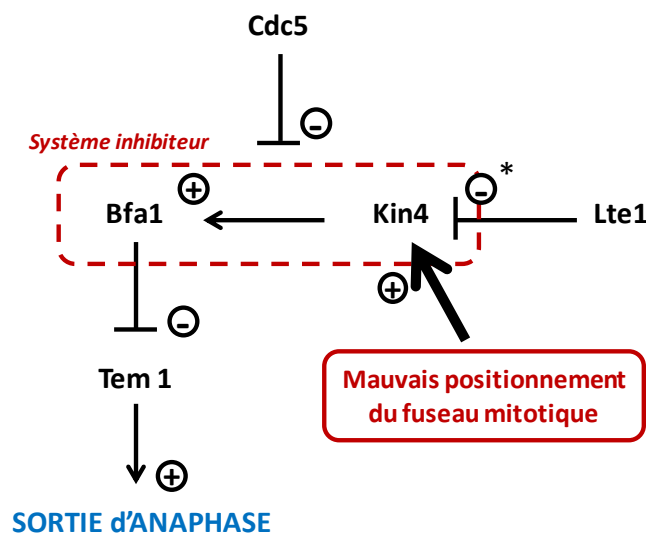
Dans une figure complexe comme présenté ici, le jury rappelle qu'il est primordial de procéder méthodiquement, en analysant dans un premier temps les conditions contrôle (ou simple mutant) et en procédant à des comparaisons judicieuses pour conclure sur l'effet de tel ou tel gène. Une analyse superficielle conduit bien trop souvent à des conclusions non justifiées et bien souvent fausses.

La figure 5A et en particulier l'analyse de la croissance de la souche Gal-KIN4 bfa1 Δ par rapport à bfa1 Δ et Gal-KIN4 montre que Bfa1 est nécessaire à l'action inhibitrice de Kin4 sur la division cellulaire et agit donc en aval de Kin4.

La figure 5B montre que Lte1 favorise la prolifération cellulaire et l'analyse des double mutants lte1Δ bfa1Δ et lte1Δ kin4Δ révèle l'activité inhibitrice de Lte1 sur l'activité inhibitrice de Bfa1 et Kin4 sur la croissance (double inhibition).

Enfin, l'étude de la souche thermosensible Cdc5-ts (bien réalisée par la majorité des candidats) montre que Cdc5 favorise la croissance et donc la prolifération cellulaire ; et que Cdc5 inhibe l'activité inhibitrice de Bfa1 sur la croissance (double inhibition).

Question 5 - Cette question invite à synthétiser sous forme schématique les informations déduites des documents précédents et surtout de la figure 5. Bien qu'aucune indication précise n'ait été donnée pour la réalisation du schéma, un maximum de précisions était attendu, notamment l'explicitation des symboles et codes utilisés et le lien avec l'objectif du sujet (point de contrôle de l'orientation du fuseau mitotique). Les schémas sont bien souvent incomplets (dépendant des informations recueillies aux questions précédentes) et pas toujours cohérents avec les conclusions énoncées précédemment par les candidats. Dans le schéma proposé ci-dessous, les flèches associées à un signe « + » indiquent une activation alors que les barres associées à un signe « - » indiquent une inhibition. Le système inhibiteur principal constitué de Kin4 et Bfa1 est encadré en rouge.



* Lte1 pourrait également inhiber directement Bfa1

Réseau de régulation de la transition Anaphase-Télophase

En conclusion, ces deux questions ont été fortement discriminantes dans la mesure où peu de candidats ont fait l'effort de réaliser une étude génétique méthodique, complète et précise des résultats et de construire un modèle pas à pas. Certains y sont parvenus et le jury tient à les féliciter.

Question 6 – La question 6 relative à la figure 6 explore les liens biochimiques entre Bfa1, Cdc5 et Tem1 au cours du cycle cellulaire. Il s'agit d'une figure composite qui regroupe les résultats issus de plusieurs expériences relatées dans le texte précédant la figure et dont le protocole détaillé est fourni dans la légende de la figure.

La figure 6A permet de suivre la cinétique de la protéine Bfa1 sous une forme de faible et de haut poids moléculaire au cours du cycle cellulaire. Etant données les conditions dénaturantes, la forme de haut poids moléculaire devrait correspondre à un ajout covalent. Beaucoup de candidats ont conclu à la présence de plusieurs sous-unités alors qu'il s'agit d'une électrophorèse réalisée en conditions dénaturantes.

La figure 6B permet de démontrer que la forme de haut poids moléculaire est une forme phosphorylée de Bfa1. La conclusion de ces deux figures est donc : Bfa1 est phosphorylée peu avant l'anaphase puis déphosphorylée en début de phase G1. Etonnamment, quelques candidats ne sont pas arrivés à cette conclusion malgré une analyse correcte de la figure.

La figure 6C présente les résultats d'une technique appelée co-immunoprécipitation explicitée dans la légende. Après précipitation de Tem1 par des anticorps spécifiques, on recueille conjointement dans la même fraction la protéine Bfa1 sous sa forme non phosphorylée démontrant l'interaction directe de Bfa1 non phosphorylée avec Tem1 lors de l'anaphase. Les pistes « extrait avant précipitation » servent de contrôle à l'expérience.

La figure 6D étudie *in vitro* la phosphorylation de protéines présentes dans le test. L'analyse des puits 1, 2, 3 permet de conclure à l'autophosphorylation de Cdc5 qui a un poids moléculaire d'environ 80 kDa. Les puits 4 et 5 permettent de conclure à la phosphorylation de Bfa1 (probablement directe) par Cdc5 *in vitro*. Si la conclusion d'une phosphorylation de Bfa1 par Cdc5 est très souvent avancée, la justification argumentée et précise est rarement effectuée.

Enfin, la figure 6E présente une expérience similaire à celle de la figure 6A réalisée en absence de Cdc5. Par comparaison avec celle-ci, on déduit le rôle indispensable de Cdc5 dans la phosphorylation de Bfa1 en anaphase *in vivo*. Les conclusions obtenues par des expériences *in vitro* et *in vivo* sont rarement différenciées par les candidats alors que leur portée est bien différente.

Une analyse progressive et minutieuse avec des conclusions partielles après chaque figure permet de construire progressivement le raisonnement. Une analyse trop superficielle ou l'absence d'une démarche méthodique pénalise les nombreux candidats qui ne peuvent utiliser les conclusions précédentes pour analyser les figures suivantes.

Enfin, une conclusion générale est attendue (même si non explicitement demandée) pour récapituler les conclusions majeures. Ainsi, au moment de l'anaphase, Cdc5 est responsable de la phosphorylation de Bfa1 ; cette phosphorylation empêche son interaction avec Tem1 ; on a donc lors de l'anaphase une levée de l'inhibition de Tem1 exercée par Bfa1 ; Tem1 active va donc permettre la sortie d'anaphase

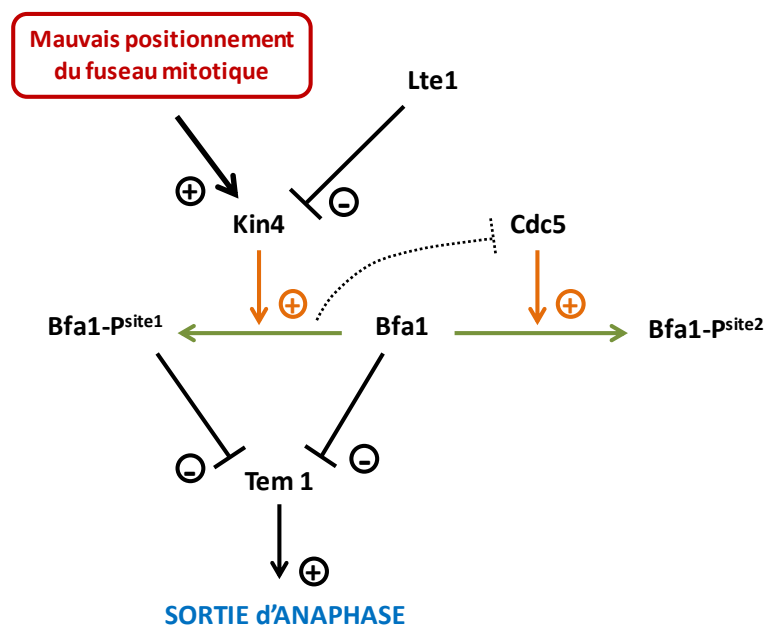
Question 7 – Le principe de la figure 7 est en tout point semblable à celle de la figure 6 en étudiant cette fois-ci les relations entre Kin4, Bfa1 et Lte1.

La figure 7A permet de conclure que Kin4 phosphoryle Bfa1 *in vitro*. Pour cette figure, la bonne conclusion est très souvent retrouvée dans les copies mais la justification est trop souvent mal étayée ou explicitée.

La figure 7B permet à la fois de corroborer les résultats précédents et de préciser la phosphorylation de Bfa1. En effet, le puits 2 montre que la phosphorylation par Cdc5 a lieu sur le site 2 et celle par Kin4 sur le site 1 (conclusion retrouvée dans près de 80% des copies ayant traitées cette question) ; et que la phosphorylation de Bfa1 sur le site 1 par Kin4 inhibe sa phosphorylation sur le site 2 par Cdc5 (conclusion rarement formulée très explicitement).

La figure 7C montre que Lte1 inhibe l'activité catalytique de Kin4 par interaction directe. Si l'inhibition de Kin4 par Lte1 est très souvent comprise, son action directe est rarement mentionnée et l'analyse du contrôle GFP n'est quasiment jamais réalisée. Or le jury rappelle que l'analyse de toute figure doit débiter par celle des contrôles.

Question 8 – A la lumière de l'ensemble des données collectées jusqu'à présent et de l'information apportée, la question 8 invite à synthétiser schématiquement l'ensemble des informations recueillies au cours de l'exercice. Les liens entre Bfa1, Kin4, Lte1 et Cdc5 sont très souvent présentés en lien avec les conclusions des figures 6 et 7. Le niveau de détail est très variable en fonction des candidats, dépendant bien souvent de la qualité et de la précision des réponses aux questions précédentes. En revanche, le lien avec la problématique du sujet est rarement effectué (Tem1 et l'orientation du fuseau mitotique). Dans le schéma proposé ci-dessous, les flèches associées à un signe « + » indiquent une activation alors que les barres associées à un signe « - » indiquent une inhibition. Les flèches orange indiquent qu'il s'agit d'une activation par phosphorylation ; les traits pointillés indiquent une interaction dont le mécanisme est hypothétique.



Réseau de régulation de la transition Anaphase-Télophase et point de contrôle de la position du fuseau mitotique

Question 9 – La question 9 ne requiert qu'une description de la figure 9. Néanmoins, cette description doit être précise et complète car elle sert de base de compréhension et de réponse à la question 10. L'utilisation d'un vocabulaire précis est en outre nécessaire pour être compréhensible par le jury : colocalisation (et non interaction), cytosol, bourgeon, signal ou marquage (et non tache), positionnement du fuseau mitotique etc

Question 10 – Les candidats sont invités à répondre à la question posée en tête de sujet, à la lumière des données acquises dans les différentes figures. Il est possible de proposer les conclusions suivantes :

Lorsque le fuseau est bien positionné, Bfa1 n'est situé qu'au COM du bourgeon, où elle est au contact de Cdc5, qui l'inactive par phosphorylation. Bfa1 ne stimule donc pas l'hydrolyse du GTP par Tem1, qui reste donc active et permet la sortie d'anaphase et donc la fin de la division cellulaire. Bfa1 est également au contact de Kin4 au sein du bourgeon, mais cette dernière est inhibée par Lte1.

Lorsque le fuseau est mal positionné en anaphase, Bfa1 est au contact de Cdc5 mais également de Kin4 au sein de la cellule mère ; or Lte1 est absente, donc Kin4 est active. Kin4 phosphoryle Bfa1, ce qui inhibe sa phosphorylation par Cdc5. Par conséquent, Bfa1 est active et inhibe l'action de Tem1, ce qui bloque la sortie d'anaphase. Ce mécanisme évite la formation de deux cellules filles dont l'une serait polyploïde et l'autre sans matériel génétique nucléaire.

Même si le degré de finesse dans l'explication est variable, nombre de candidats ont répondu à cette question et le jury les félicite d'avoir persévéré jusqu'au bout de l'exercice.

3. Eléments de correction de la partie C

Cette partie s'intéresse aux recombinaisons génétiques ayant lieu pendant la méiose, les déterminants moléculaires à l'origine de ce processus ainsi que leur rôle dans le processus méiotique lui-même. On peut ainsi mettre en évidence le rôle de la protéine SPO11 dans la formation de cassures double brins de l'ADN et de portions d'ADN simple brin (ADNsb), son importance dans la mise en place des crossings-overs (CO) et le brassage intra-chromosomique ainsi que son rôle dans la ségrégation correcte des chromosomes lors de la première division méiotique.

Question 1 – La figure 1 a souvent été analysée rapidement, peut-être trop rapidement, certains candidats concluant à une interaction entre SYCP1 et SYCP3, ce que la figure ne démontre pas (une colocalisation ne démontre pas d'interaction). On peut observer une colocalisation entre SYCP1 et SYCP3 au niveau des zones d'appariement entre chromosomes homologues et une dynamique d'association puis de dissociation progressive de SYCP3 (sur l'ensemble du chromosome) et de SYCP1 (au niveau des zones d'appariement) au cours de la prophase I de méiose.

Les hypothèses formulées sont le plus souvent réalistes même si rarement justifiées : protéines spécifiques de la prophase de méiose (des acteurs contrôlant leur colocalisation avec l'ADN) pour SYCP3 et SYCP1, appartenance aux protéines constituant la chromatine pour SYCP3, rôle dans l'appariement des chromosomes homologues pour SYCP1.

Question 2 - La figure 2A n'a été que très rarement analysée ou alors trop superficiellement, alors qu'elle permet de comprendre l'expérience réalisée et son objectif. On y observe un marquage des protéines SCYP3, SSB et RAD51. SYCP3 colocalise avec les chromosomes (comme dans la figure 1). SSB et RAD51 colocalisent avec l'ADN sur des portions restreintes des chromosomes appelées foci. La

position des foci SSB et RAD51 étant identique, cela démontre leur colocalisation. L'énoncé précise que RAD51 se fixe au niveau de cassures double brin de l'ADN et que SSB est une protéine se liant aux portions simple brin de l'ADN. On peut déduire de cette figure que les foci marquent les zones présentant de l'ADN simple brin et des cassures double brin.

La schématisation de la structure de l'ADN au niveau des foci demandée à la question 2b nécessitait de la part des candidats une réflexion approfondie et une analyse fine de l'énoncé et de la figure 2A. Rares sont ceux qui ont proposé une schématisation répondant à l'ensemble des données de l'énoncées ou déduites de la figure.

De l'analyse des graphiques B et C, on déduit que l'irradiation provoque la formation de foci SSB et RAD51, c'est-à-dire la formation de portion d'ADNsb et de cassures double brin. La mutation SPO11^{-/-} diminue le nombre de foci quand l'irradiation les restaure chez le mutant SPO11^{-/-}. La protéine SPO11 est donc indispensable à la mise en place de portions d'ADNsb associées à des cassures double brin. L'analyse de la figure est bien souvent restée incomplète, ce qui n'a pas permis aux candidats d'énoncer ces conclusions. Cependant, quelques candidats proposent des mécanismes moléculaires pertinents pour expliquer le rôle de SPO11 : rôle d'endonucléase ou d'exonucléase, de recrutement de protéines présentant ce type d'activités, ...

Question 3 – Dans la figure 3, l'irradiation est utilisée comme outil pour étudier l'effet de la protéine SPO11 car la figure précédente montre que l'irradiation a le même effet que SPO11. Son action est également contrôlable dans le temps et dans l'espace. Le jury tient à souligner que seuls quelques candidats ont fait le lien avec les résultats de l'expérience précédente pour justifier de manière pertinente l'utilisation de l'irradiation comme outil.

L'analyse des figures 3A et 3B permet de déduire que la longueur totale du marquage SYCP1 par noyau (et donc l'association des chromosomes homologues) augmente avec l'irradiation mais également du stade 2 au stade 3 (avec ou sans irradiation), confirmant les données de la figure 1. La formation de portions d'ADNsb et de cassures double brin de l'ADN favorisent donc leur appariement, mais ne sont pas indispensables.

Ainsi, au stade 1, la protéine SYCP3 s'associe aux chromosomes et SPO11 serait impliquée dans la mise en place de cassures double brin de l'ADN et d'ADNsb auxquels RAD51 et SSB s'associent respectivement. Au stade 2, l'appariement des chromosomes homologues est dépendant de la formation des foci au stade 1. SYCP1 colocalise avec les zones d'appariements. Au stade 3, l'appariement des chromosomes homologues est quasi-parfaite. Toutes les hypothèses et scénarios pertinents proposés à partir des informations disponibles ont été valorisés.

Question 4 – La question 4 s'intéresse à la réparation des cassures doubles brins engendrées par la protéine SPO11. Afin d'appréhender l'évolution de la structure de l'ADN au niveau des zones de recombinaison, plusieurs sous-questions décomposent le mécanisme.

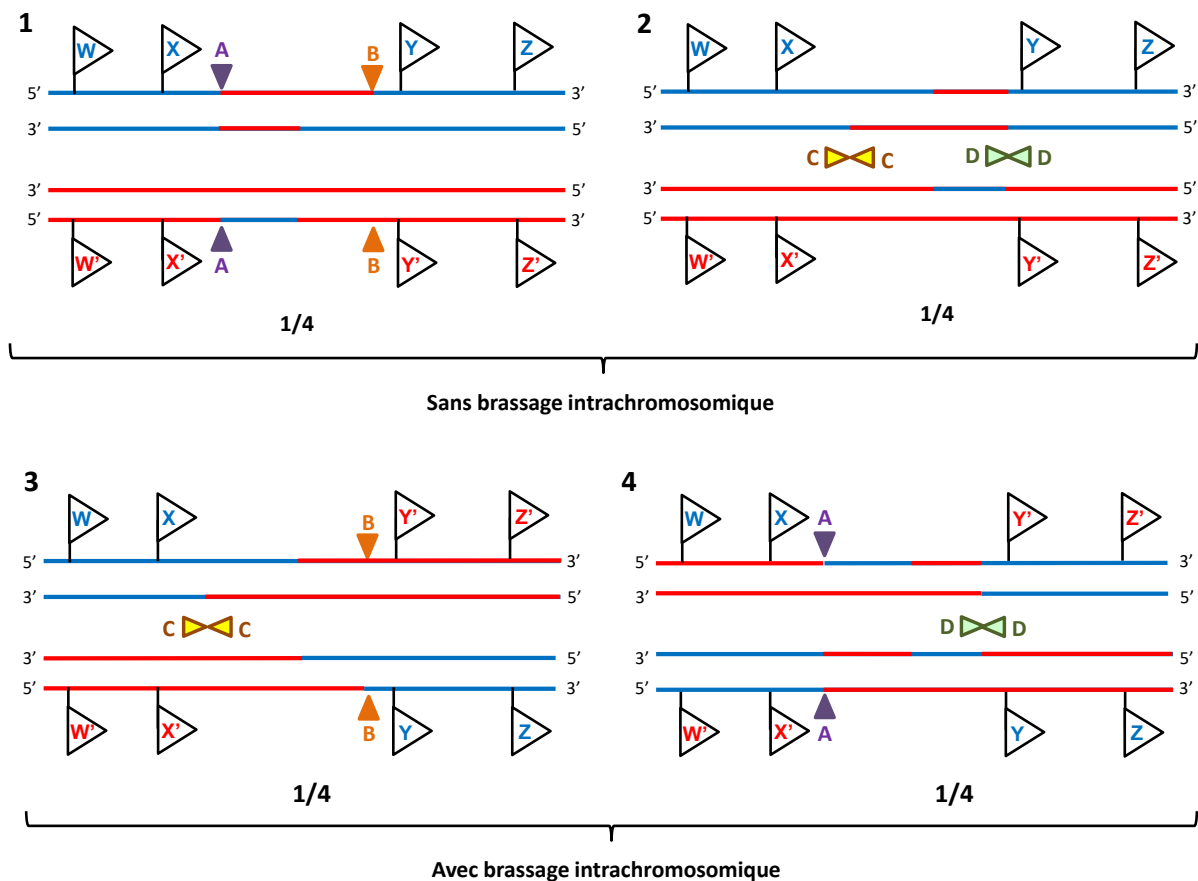
Les ADN polymérases synthétisent un brin d'ADN dans le sens 5'→3' en utilisant une amorce et un brin matrice. La portion d'ADNsb étant orientée 5'→3', l'ADN polymérase ne peut utiliser le brin complémentaire pour la synthèse, un échange de brin entre les 2 chromatides est donc nécessaire. Si la très grande majorité des candidats citent les caractéristiques du fonctionnement des ADN

polymérasés, très peu construisent un raisonnement argumenté pour expliquer l'échange de brins entre chromatides.

La deuxième partie de la question nécessite de bons réflexes de génétique moléculaire et une bonne appropriation de la structure. De nombreux candidats ont proposé une structure génétique possible, mais seulement une poignée ont présenté les 4 structures équiprobables résultant de l'action coordonnée du complexe endonucléase-ligase sur les sites AA, BB, CC ou DD.

Il y a brassage intra-chromosomique à chaque fois qu'il y a échange d'une portion de chromatide contenant un ou plusieurs gènes et des séquences inter-géniques (ici des marqueurs) entre 2 chromosomes homologues. Il y a donc brassage intra-chromosomique dans les cas 3 et 4 mais pas dans les cas 1 et 2 (où seul un fragment de quelques nucléotides est échangé entre chromatides).

Les 4 combinaisons présentées étant équiprobables, chaque structure génétique résultante a une fréquence de $\frac{1}{4}$.



Question 5 – La figure 5 s'intéresse à la protéine C qui fait partie du complexe endonucléase-ligase mentionné précédemment et qui assure la cohésion des chromatides sœurs. L'analyse du nombre de foci permet d'affirmer que la protéine C n'influence pas le nombre de foci RAD51 par cellule mais inhibe la formation de foci RAD51 aux loci CBS au niveau desquels elle se fixe.

La très grande majorité des candidats effectue une bonne analyse de la figure, mais peu d'entre-eux proposent des hypothèses argumentées pour l'expliquer : inhibition de la fixation, inhibition de l'activité catalytique de SPO11 ou d'une autre protéine impliquée dans la formation de cassures double brin.

Question 6 – La figure 6 permet alors de faire le lien entre la protéine C, la protéine SPO11 étudiée précédemment et la ségrégation des chromosomes lors de la méiose I. En effet, d'après les résultats présentés, la protéine C est nécessaire à la ségrégation des chromosomes lors de la méiose I et la protéine SPO11 est nécessaire à la migration des chromosomes à des pôles opposés de la cellule. Enfin, le phénotype du mutant $C^{-/}$ étant partiellement restauré par la mutation $SPO11^{-/}$, on peut affirmer que les protéines C et SPO11 agissent dans la même voie. La figure 6B montre que l'irradiation d'un mutant $SPO11^{-/}$ permet de restaurer partiellement la ségrégation des chromosomes à des pôles opposés de la cellule, confirmant les résultats précédents. Les quelques copies qui ont abordé cette question ont souvent rencontré des difficultés pour formuler leurs idées et pour dégager le rôle de chaque protéine. Le jury rappelle qu'une analyse méthodique est nécessaire pour pouvoir progresser rigoureusement dans le raisonnement.

Question 7 – Enfin, la figure 7 aborde la question du positionnement des crossing-overs (CO) lors de la prophase I de méiose, conséquence de l'activité des protéines étudiées précédemment. La figure 7A permet de déduire que la protéine C est responsable de la répartition homogène des foci RAD51 le long du chromosome, ce qui est en adéquation avec son rôle formulé question 5.

Pour étudier la répartition des CO sur un chromosome, la figure introduit la notion de coefficient de coïncidence. Si quelques candidats ont abordé cette question, la plupart se sont contentés de paraphraser la formule mathématique utilisant quelques concepts de probabilités connus, sans vraiment expliciter la signification biologique. Si deux événements sont indépendants $P(A \text{ inter } B) = P(A) \cdot P(B)$, le coefficient de coïncidence est alors égal à 1. Si les 2 événements ne sont pas indépendants, alors le coefficient de coïncidence est différent de 1. Le coefficient de coïncidence permet donc de déterminer si la survenue d'un CO dans un intervalle donné est indépendante ou non de la présence d'un CO dans un autre intervalle, et le cas échéant d'estimer sa probabilité.

La figure 7C, nous indique que la présence d'un CO inhibe la survenue d'un autre CO jusqu'à une distance de $0,5 \mu\text{m}$ (coefficient de coïncidence < 1) et que cette inhibition est proportionnelle à la distance physique ; et la figure 7D que cette inhibition est indépendante de la protéine C même si celle-ci est impliquée dans l'inhibition des cassures double brin de l'ADN.

Question 8 – Cette dernière question permet de retracer chronologiquement la structure génétique de l'ADN ainsi que le rôle des différentes protéines étudiées au cours des premières étapes de la division méiotique : prophase I (5 stades), métaphase et anaphase avec la ségrégation des chromosomes. Peu de candidats sont arrivés à cette question avec des propositions très inégales en fonction de la qualité des réponses aux questions précédentes.