

SESSION DE 2008

**CONCOURS EXTERNE
DE RECRUTEMENT DE PROFESSEURS CERTIFIÉS
ET CONCOURS D'ACCÈS À DES LISTES D'APTITUDE (CAFEP)**

Section : SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

COMPOSITION SUR UN SUJET DE BIOLOGIE

Durée : 6 heures

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

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

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

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

Tournez la page S.V.P.

Remarques importantes :

1. Le sujet comporte 4 parties et 6 documents.
2. Seront prises en compte dans la notation : la clarté de la présentation, la précision de l'analyse, la qualité des illustrations et la rigueur des interprétations et des raisonnements.
3. Certaines figures pourront être jointes à la copie si le candidat considère que des annotations en surcharge constituent des éléments appréciables de réponse aux questions ; il devra alors les coller sur la copie.
4. Les quatre parties du sujet sont indépendantes. Cependant, certaines informations contenues dans le document 5 (2^{ème} partie du sujet) peuvent être utiles pour répondre à la question 4 (4^{ème} partie du sujet).
5. Il n'est pas demandé d'introduction ni de conclusion générales mais seulement de répondre aux questions posées dans l'énoncé.

Partie 1 : Quelques aspects structuraux et fonctionnels de la molécule d'ADN (durée conseillée : 2h).

Structure de la molécule d'ADN

Cinquante-cinq années se sont écoulées depuis que Watson et Crick ont élucidé la structure spatiale de la molécule d'ADN (acide désoxyribonucléique). Avant cela, d'autres chercheurs comme R. Franklin ou encore E. Chargaff ont obtenu des résultats importants pour la détermination de la structure de cette molécule.

Question 1.1

E. Chargaff et ses collègues ont isolé l'ADN de plusieurs organismes différents. Après plusieurs traitements suivis d'une chromatographie, ils ont pu quantifier les bases contenues dans l'ADN. Le document 1 présente les résultats obtenus pour différentes espèces.

► Quelles informations sur la structure de l'ADN peut-on tirer de l'exploitation du document 1?

Question 1.2

Le spectre d'absorption de l'ADN montre une absorbance maximale à 260 nm. A cette longueur d'onde, une molécule d'ADN monocaténaire présente une absorbance supérieure de 37% à celle d'une molécule d'ADN bicaténaire. Cette propriété d'hyperchromicité de la forme monocaténaire peut être utilisée pour mesurer l'effet de la température sur une molécule d'ADN bicaténaire (document 2).

1.2.a : ► Donnez la définition du T_m . Indiquez les principales informations que l'on peut tirer du document 2 ainsi que les relations que l'on peut établir avec le document 1.

1.2.b : La PCR (réaction de polymérisation en chaîne) est une méthode usuelle d'amplification d'un fragment d'ADN, qui utilise classiquement des amorces d'une vingtaine de nucléotides.

► Présentez le principe de cette méthode. Vous préciserez notamment en quoi la connaissance du T_m des amorces utilisées, conditionne la réussite de la PCR.

Question 1.3

► A partir des données des deux questions précédentes et en vous appuyant sur vos connaissances, présentez sous forme de schémas clairement annotés les éléments essentiels composant la molécule d'ADN ainsi que leur agencement dans la structure de la molécule (Les formules chimiques développées des bases ne sont pas exigées).

Fonction de la molécule d'ADN**Question 1.4**

Le bactériophage T2 est un phage virulent qui produit un cycle lytique chez une souche sensible d'*Escherichia coli*.

1.4.a :

- Schématisez un bactériophage de la série T en indiquant ses principaux constituants.
- Décrivez les différentes étapes d'un cycle lytique chez une souche sensible d'*Escherichia coli*.

1.4.b :

- Analysez le document 3 en précisant notamment dans quels types de molécules sont retrouvés les isotopes radioactifs ^{32}P et ^{35}S .
- Montrez quelles propriétés fondamentales de la molécule d'ADN ont été mises en évidence de cette façon par Hershey et Chase en 1953.

Question 1.5 :

Le document 4 présente les résultats expérimentaux obtenus par Meselson et Stahl en 1958.

- 1.5.a : ► En exploitant le document 4, montrez comment Meselson et Stahl ont mis en évidence une propriété fondamentale de la réplication de la molécule d'ADN

1.5.b : L'initiation de la réplication d'une molécule d'ADN *in vivo* conduit à la formation d'une fourche de réplication.

► À partir de l'exploitation du document 4 et de vos connaissances, réalisez un schéma fonctionnel montrant la progression de cette fourche chez *E. coli*. Votre schéma comportera les différentes molécules essentielles à la réalisation de ce processus.

Partie 2 : D'un gène à la synthèse d'une protéine : exemple de l'insuline humaine (durée conseillée : 1h)

L'insuline humaine active est une protéine formée d'une chaîne A (21 acides aminés) et d'une chaîne B (30 acides aminés). Les deux chaînes A et B sont reliées entre-elles grâce à 2 ponts disulfures. Un troisième pont disulfure relie deux acides aminés de la chaîne A entre-eux (document 5A). La séquence des acides aminés a été déterminée par Sanger en 1955 et la structure tertiaire de la protéine a été établie en 1969. La structure du gène de l'insuline et sa séquence nucléotidique ont pu être caractérisées en 1980.

Question 2.1 :

Grâce à une expérience d'hybridation *in situ*, le gène humain de l'insuline a pu être localisé sur le bras court du chromosome 11.

► Indiquez les différentes étapes permettant, à partir des cellules humaines de votre choix, d'établir ce résultat.

Question 2.2 :

► A partir de l'ensemble du document 5 et de vos connaissances, vous développerez, à l'aide de schémas, les étapes qui à partir du gène de l'insuline permettent d'aboutir à la synthèse de l'insuline active dans une cellule productrice de cette hormone. Vous préciserez notamment la localisation et le type de cellules concernées et indiquerez les différents compartiments cellulaires impliqués dans la synthèse.

Partie 3 : L'insuline et l'homéostasie glucidique (durée conseillée : 1h)**Question 3 :**

3.1 : ► À partir de vos connaissances, décrivez l'action de l'insuline dans le maintien de l'homéostasie glucidique. Vous préciserez notamment ses effets sur les cellules cibles ainsi que son mode d'action. Vous préciserez également les modalités de sa sécrétion et le mécanisme par lequel le glucose contrôle ce processus.

3.2 : Le diabète sucré est une maladie caractérisée par une glycémie à jeun supérieure à $1,26 \text{ g.L}^{-1}$.

On distingue le diabète insulino-dépendant et le diabète non insulino-dépendant.

► Présentez, à l'aide de vos connaissances, les mécanismes à l'origine de ces deux maladies.

Partie 4 : Génomique comparée (durée conseillée : 1h30)

La détermination des séquences nucléotidiques complètes du génome d'un nombre de plus en plus important d'espèces a permis la découverte de séquences similaires à celles codant l'insuline humaine. Le document 6 présente quelques données relatives à l'organisation des gènes codant l'insuline et aux séquences protéiques correspondantes dans différentes espèces.

Question 4 :

► Quelles informations concernant la structure des gènes de l'insuline et leur évolution peut-on tirer du document 6 ? *Votre réponse sera précédée d'une introduction et sera suivie d'une conclusion.*

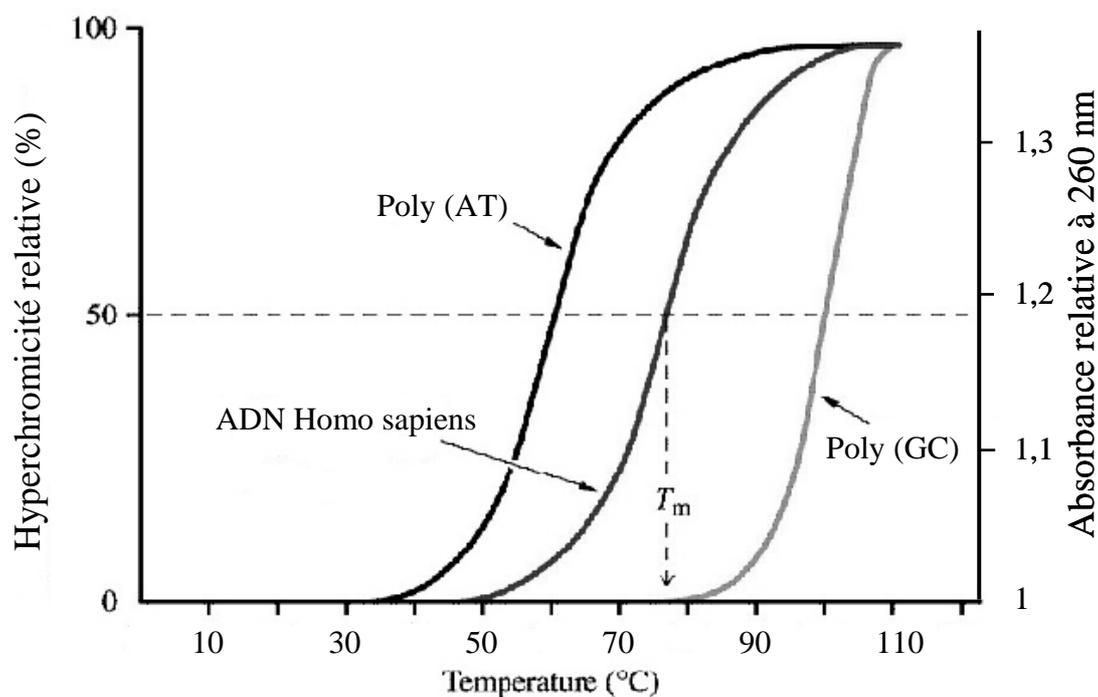
Document 1 : Composition en bases de l'ADN de différentes espèces (%)

Espèces	Provenance de l'ADN étudié	Adénine	Guanine	Thymine	Cytosine
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Levure)	Culture	31,3	18,7	32,9	17,1
<i>Paracentrotus lividus</i> (Oursin)	Sperme	32,8	17,7	32,1	18,4
<i>Rattus norvegicus</i> (Rat)	Moelle osseuse	28,6	21,4	28,4	21,5
<i>Clupea harengus</i> (Hareng)	Sperme	27,8	22,2	27,5	22,6
<i>Escherichia coli</i> (Bactérie Gram ⁻)	Culture	24,7	26	23,6	25,7
<i>Diplococcus pneumoniae</i> (Bactérie Gram ⁺)	Culture	29,8	20,5	30,6	19
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Mycobactérie)	Culture	15,1	34,9	14,6	35,4
<i>Homo sapiens</i>	Sperme	30,9	19,9	29,4	19,8
<i>Sarcina lutea</i> (Bactérie Gram ⁺)	Culture	13,4	37,1	12,4	37,1
Bactériophage T7	Lysat bactérien	26	24	26	24
Bactériophage T2	Lysat bactérien	32,7	16,8	33	17,5
Bactériophage PhiX174 *	Lysat bactérien	24,1	23,3	31,2	21,5

* : Bactériophage à génome circulaire et monocaténaire
D'après Chargaff et coll. J Biol Chem. (1950)

Document 2 : Effet de la température sur l'absorption à 260 nm de différentes solutions aqueuses d'ADN double brin.

D'après J. David Rawn Biochimie - Editions Universitaires



Document 3 : Expérience de Hershey et Chase

Un cycle lytique de T2 a été réalisé sur une population d'*E. coli* sensible cultivée dans un milieu contenant des sels de phosphate marqués au ^{32}P . De la même manière, un cycle lytique a été réalisé sur une autre population d'*E. coli* sensible, cultivée dans un milieu contenant des sels de sulfate marqués au ^{35}S . Ces deux populations de phages « ^{32}P » et « ^{35}S » ont été récupérées et ont servi à réaliser 2 nouvelles infections indépendantes de bactéries cultivées dans un milieu contenant des sels de sulfate et de phosphate non marqués.

Après un contact de 15 minutes, le mélange a été centrifugé à basse vitesse (2000g) et la radioactivité mesurée dans le culot et le surnageant. Le culot obtenu après cette première centrifugation a ensuite été soumis à une agitation vigoureuse à l'aide d'un mixer pendant 3 minutes et la radioactivité a été mesurée après une nouvelle centrifugation (2000g) dans les différents échantillons.

Le tableau ci-dessous présente les résultats de ces expériences.

Population de phages utilisée pour l'infection	Phages ^{32}P		Phages ^{35}S	
	Surnageant	Culot	Surnageant	Culot
Répartition de la radioactivité après la première centrifugation basse vitesse (2000g)	10 %	90 %	16%	84%
Répartition de la radioactivité après agitation suivie d'une deuxième centrifugation basse vitesse (2000g)	18%	82%	81%	19%

D'après A.D. Hershey et M. Chase : The Journal of General Physiology (1952)

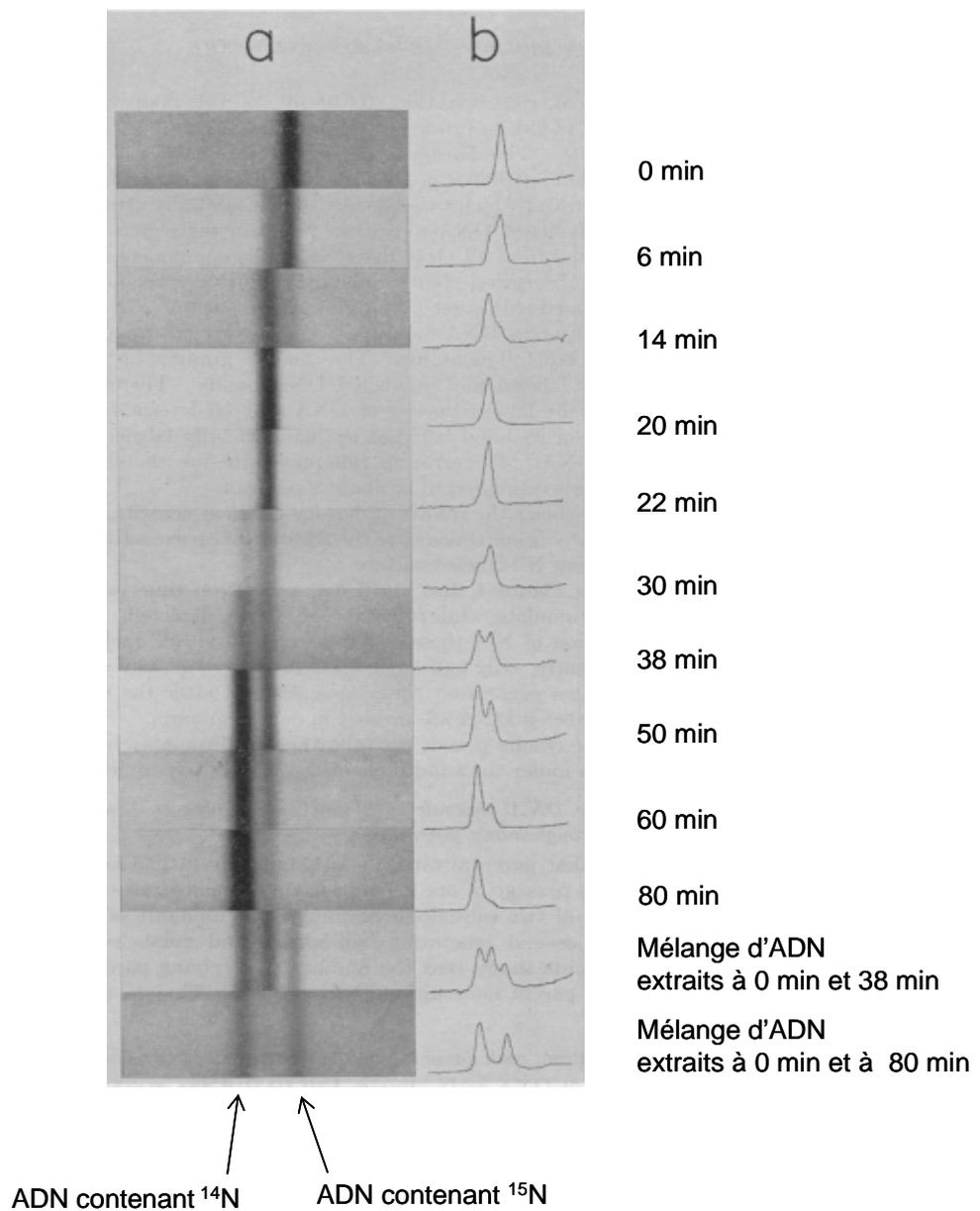
Document 4 : Expérience de Meselson et Stahl (1958)

Une culture d'*Escherichia coli* a été réalisée pendant 14 générations sur un milieu contenant du chlorure d'ammonium dont l'azote est l'isotope lourd ^{15}N ($^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$). La culture est ensuite diluée dans un milieu contenant du chlorure d'ammonium dont l'azote est l'isotope léger ^{14}N ($^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$). A intervalles de temps réguliers, une fraction de la culture est prélevée, l'ADN extrait est soumis à une ultracentrifugation en gradient de chlorure de césium puis visualisé sous lumière ultraviolette.

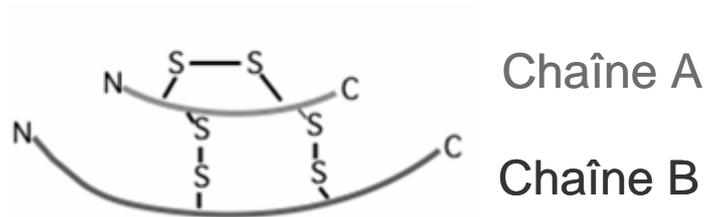
Le temps de génération de la souche utilisée est de 20 min.

a : visualisation de l'ADN dans le gradient de césium.

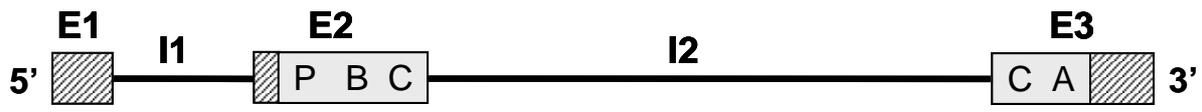
b : profil densitométrique des photographies présentées en a.



Document 5A : Structure de la forme active de l'insuline



Document 5B : Carte du gène humain de l'insuline (source NCBI)



E = exon
 Région non traduite
 Région traduite (PBCA = préproinsuline)

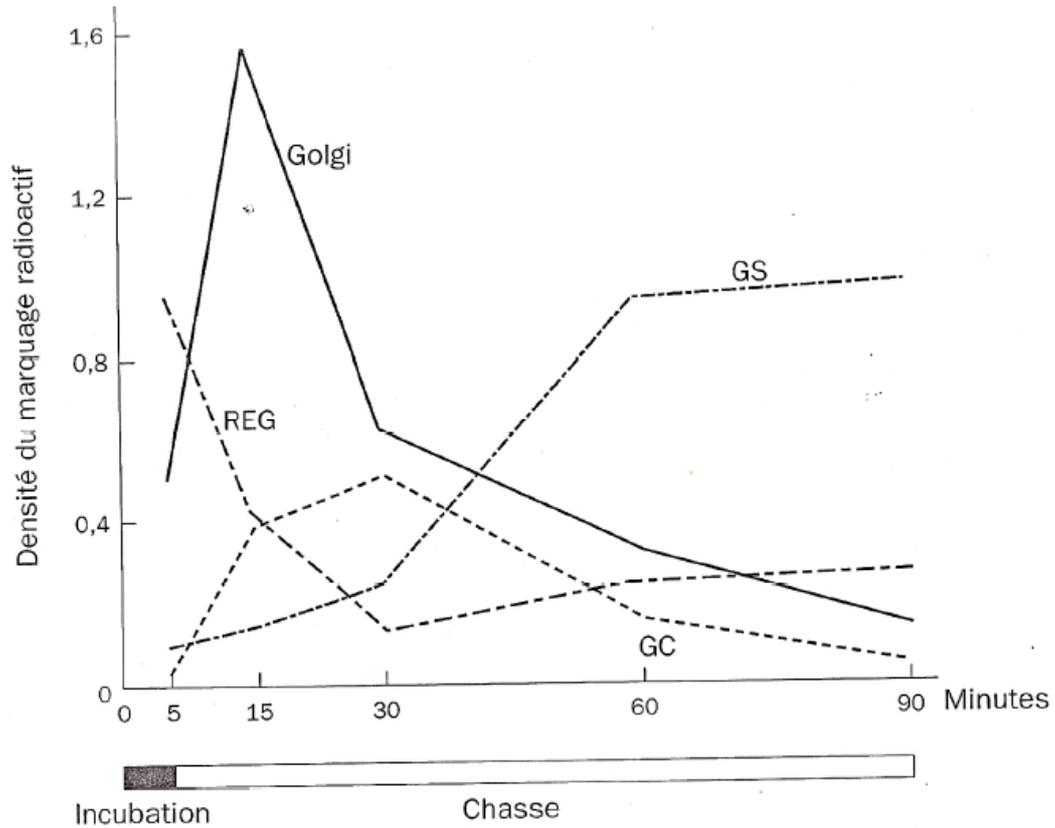
I = intron

Document 5C : Les étapes post-traductionnelles de la synthèse d'insuline.

Préproinsuline (PBCA) → Proinsuline (BCA) → Insuline active (BA)

Document 5D : Des cellules productrices d'insuline sont placées pendant 5 minutes dans un milieu contenant de la leucine marquée au tritium ^3H (incubation), puis pendant 85 minutes dans un milieu contenant de la leucine non radioactive (chasse). La localisation de la radioactivité est déterminée au cours du temps par autoradiographie.

REG : réticulum endoplasmique, GC : vésicules sécrétoires recouvertes et GS : vésicules lisses.



Document 6A : % d'identité en acides aminés de la préproinsuline entre plusieurs espèces comparées deux à deux. (Source : NCBI)

	<i>H. sapiens</i>	<i>P. troglodytes</i>	<i>C. lupus</i>	<i>M. musculus</i>	<i>R. norvegicus</i>	<i>G. gallus</i>	<i>D. rerio</i>
<i>Homo sapiens</i>	100						
<i>Pan troglodytes</i> (Chimpanzé)	98,2	100					
<i>Canis lupus</i> (Loup)	88,2	87,3	100				
<i>Mus musculus</i> (Souris) (*)	81,8	80,9	80,9	100			
<i>Rattus norvegicus</i> (Rat) (§)	82,7	81,8	80	94,5	100		
<i>Gallus gallus</i> (Poule)	65,4	64,5	69,2	62,6	64,5	100	
<i>Danio rerio</i> (poisson zèbre) (#)	50,5	51,5	51,5	52,5	50,5	55,8	100

(*) données relatives au gène INS-2 situé sur le chromosome 19

(§) données relatives au gène INS-2 situé sur le chromosome 1

(#) données relatives au gène INS-A situé sur le chromosome 5

Document 6B : Organisation des gènes de l'insuline (INS) de plusieurs espèces : Taille des introns 1 et 2 en paires de bases (d'après Hay et Docherty, Diabetes 2006)

Gènes	Espèces	Intron 1	Intron 2
INS (chromosome 11)	<i>Homo sapiens</i>	179	786
INS (chromosome 11)	<i>Pan troglodytes</i>	179	794
INS (chromosome 11)	<i>Gorilla gorilla</i>	194	783
INS (chromosome 18)	<i>Canis lupus</i>	264	264
INS-2 (chromosome 19)	<i>Mus musculus</i>	119	499
INS-1 (chromosome 7)	<i>Mus musculus</i>	119	0
INS-2 (chromosome 1)	<i>Rattus norvegicus</i>	119	486
INS-1 (chromosome 1)	<i>Rattus norvegicus</i>	119	0
INS (chromosome 5)	<i>Gallus gallus</i>	719	3424
INS-A (chromosome 5)	<i>Danio rerio</i>	99	2428
INS-B (chromosome 14)	<i>Danio rerio</i>	533	2102

Document 6C : Code international des acides aminés :

Acide Aspartique	D
Acide Glutamique	E
Alanine	A
Arginine	R
Asparagine	N
Cystéine	C
Glutamine	Q
Glycine	G
Histidine	H
Isoleucine	I
Leucine	L
Lysine	K
Méthionine	M
Phénylalanine	F
Proline	P
Sérine	S
Thréonine	T
Tryptophane	W
Tyrosine	Y
Valine	V

Document 6D : Alignement des séquences d'acides aminés de la préproinsuline de plusieurs espèces. Les lettres correspondent au code international des acides aminés. (Source: NCBI)

* : acide aminé conservé dans les 7 protéines.

X : acide aminé conservé dans 6 des 7 protéines

+ : acides aminés de propriétés similaires retrouvés dans les 7 protéines.

	Peptide P	Peptide B	
Homo sapiens	1 M A L W M R L L P L L A L L A L L W G P D P A A A A F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Pan troglodytes	1 M A L W M R L L P L L V L L A L L A L W G P D P A S S A F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Canis lupus	1 M A L W M R L L P L L A L L A L L A L W A P A P T R A F V N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Mus musculus (INS-2)	1 M A L W M R F L P L L A L L A L L W E S H P T Q A F V K Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Rattus norvegicus (INS-2)	1 M A L W I R F L P L L A L L I L W E P R P A Q A F V K Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Gallus gallus	1 M A L W I R S L P L L A L L V F S G P G T S Y A A A A N Q H L C G S H L V E A L Y L V C G		44
Danio rerio (INS-A)	1 M A V W I Q A G A L L L V L L V S - S V S T N P G T P Q H L C G S H L V D A L Y L V C G		43

	Peptide B	Peptide C	
Homo sapiens	45 E R G F F F Y T P K T R R E A E E D L Q V G Q V E L G G G P G A G S L Q P L A L E G S L Q K R		89
Pan troglodytes	45 E R G F F F Y T P K T R R E A E E D L Q V G Q V E L G G G P G A G S L Q P L A L E G S L Q K R		89
Canis lupus	45 E R G F F F Y T P K A R R E V E E D L Q V R D V E L L A G A P G E G G L Q P L A L E G A L Q K R		89
Mus musculus (INS-2)	45 E R G F F F Y T P M S R R E V E E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A Q Q K R		89
Rattus norvegicus (INS-2)	45 E R G F F F Y T P M S R R E V E E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A R Q K R		89
Gallus gallus	45 E R G F F F Y S P K A R R D V E E Q P L V S S - P L R G - - E A G V L P F F Q Q E E Y E K V K R		86
Danio rerio (INS-A)	44 P T G F F F Y N P K - R R D V E P L L L G F L P P K S A Q E T E V A D F A F K D H A E L I R K R		87

	Peptide A	
Homo sapiens	90 G I V E Q Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N	110
Pan troglodytes	90 G I V E Q Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N	110
Canis lupus	90 G I V E Q Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N	110
Mus musculus (INS-2)	90 G I V D Q Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N	110
Rattus norvegicus (INS-2)	90 G I V D Q Q C C T S I C S L Y Q L E N Y C N	110
Gallus gallus	87 G I V E Q Q C C H N T C S L Y Q L E N Y C N	107
Danio rerio (INS-A)	88 G I V E Q Q C C H K P C S I F E L Q N Y C N	108

Document 6E: Alignement des séquences d'acides aminés des produits des deux gènes de l'insuline chez trois espèces de Vertébrés possédant deux gènes de l'insuline. (Source : NCBI)

* : acides aminés identiques dans les deux séquences

Mus musculus

INS-2	1	Peptide P	M A L W M R F L P L L A L L F L W E S H P T Q A	Peptide B	F V K Q H L C G S H L V E A L Y L V C G	44
INS-1	1		M A L L V H F L P L L A L L A L L W E P K P T Q A		F V K Q H L C G P H L L V E A L Y L V C G	44
			* * * * *		* * * * *	
INS-2	45	Peptide B	E R G F F Y T P M S R R E V E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A Q Q K R	Peptide C	R R E V E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A Q Q K R	89
INS-1	45		E R G F F Y T P K S R R E V E D P Q V E Q L E L G G S P G D L Q T L A L E V A - - R Q K R		* * * * *	87
			* * * * *		* * * * *	
INS-2	90	Peptide A	G I V D Q C C C T S I C S L Y Q L E N Y C N			110
INS-1	90		G I V D Q C C C T S I C S L Y Q L E N Y C N			108
			* * * * *		* * * * *	

Rattus norvegicus

INS-2	1	Peptide P	M A L W I R F L P L L A L L I L L W E P R P A Q A	Peptide B	F V K Q H L C G S H L V E A L Y L V C G	44
INS-1	1		M A L W M R F L P L L A L L L L W E P K P A Q A		F V K Q H L C G P H L L V E A L Y L V C G	44
			* * * * *		* * * * *	
INS-2	45	Peptide B	E R G F F Y T P M S R R E V E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A R Q K R	Peptide C	R R E V E D P Q V A Q L E L G G G P G A G D L Q T L A L E V A R Q K R	89
INS-1	45		E R G F F Y T P K S R R E V E D P Q V P Q L E L G G P E A G D L Q T L A L E V A R Q K R		* * * * *	89
			* * * * *		* * * * *	
INS-2	90	Peptide A	G I V D Q C C C T S I C S L Y Q L E N Y C N			110
INS-1	90		G I V D Q C C C T S I C S L Y Q L E N Y C N			110
			* * * * *		* * * * *	

Danio rerio

INS-A	1	Peptide P	M A V W I Q A G A L L V L L V S S V S T N P	Peptide B	G T P Q H L C G S H L V D A L Y L V C G	43
INS-B	1		M V L L L Q A - S V L L L L L A S L P G S Q S		S P S Q H L C G S S L V D A L Y L V C G	42
			* * * * *		* * * * *	
INS-A	44	Peptide B	P T G F F Y N P K R D V E P L L G F L P K S A Q E T E V A D F A F K D H A E L I R K R	Peptide C	R D V E P L L G F L P K S A Q E T E V A D F A F K D H A E L I R K R	87
INS-B	43		P R G F F Y T N R G R R D L E T L L A L L S N L A G Y E A A D A D P L K E K V M K M K R		G R R D L E T L L A L L S N L A G Y E A A D A D P L K E K V M K M K R	86
			* * * * *		* * * * *	
INS-A	88	Peptide A	G I V E Q C C C H K P C S I F E L Q N Y C N			108
INS-B	87		G I V E Q C C C H R P C T I Y H L E D Y C S			107
			* * * * *		* * * * *	