

SVT, ÉPREUVE SUR SUPPORT DE DOCUMENTS

BIOLOGIE

Durée : 2 heures

L'usage d'abaques, de tables, de calculatrice et de tout instrument électronique susceptible de permettre au candidat d'accéder à des données et de les traiter par des moyens autres que ceux fournis dans le sujet est interdit.

Chaque candidat est responsable de la vérification de son sujet d'épreuve : pagination et impression de chaque page. Ce contrôle doit être fait en début d'épreuve. En cas de doute, il doit alerter au plus tôt le surveillant qui contrôlera et éventuellement remplacera le sujet.

Ce sujet comporte 10 pages numérotées de 1 à 10 et une annexe format A3 à rendre avec la copie.

Si, au cours de l'épreuve, un candidat repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il le signale sur sa copie et poursuit sa composition en expliquant les raisons des initiatives qu'il a été amené à prendre.

Quelques aspects de la biosynthèse de la cellulose

Ce sujet est constitué de quatre thèmes indépendants, eux mêmes organisés en sous parties partiellement indépendantes. Un cinquième thème propose de faire la synthèse de l'ensemble du sujet.

- Le candidat s'appuiera essentiellement sur une analyse des documents pour répondre aux questions posées au fur et à mesure des documents ;
- Le candidat ne doit pas rédiger de longs développements de ses connaissances sur le thème, indépendamment de l'exploitation des documents et des questions posées ;
- La concision des réponses et l'exploitation des documents sans paraphrase seront valorisées.

Références

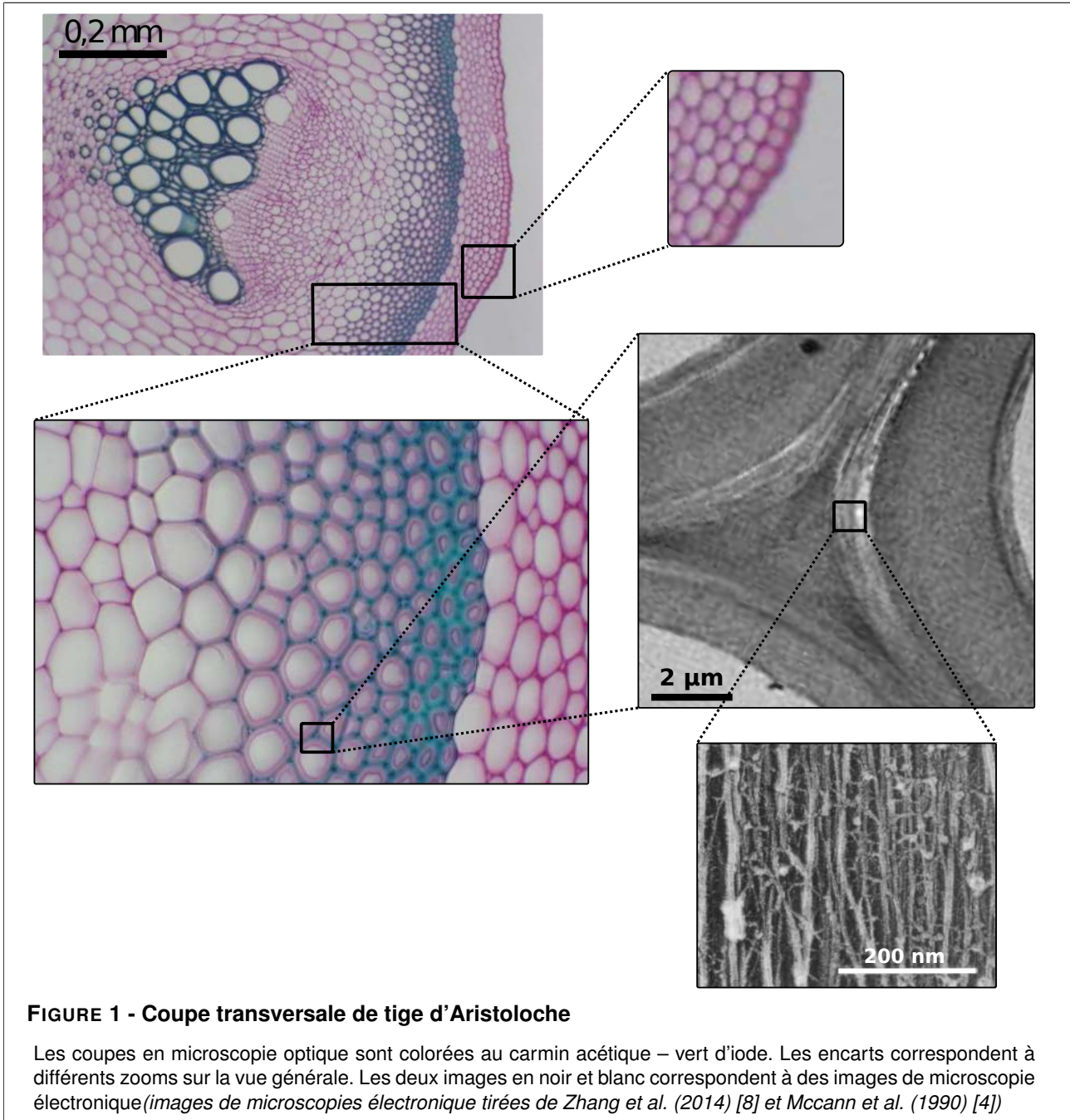
- [1] **Endler et al. (2015)**
A Mechanism for Sustained Cellulose Synthesis during Salt Stress– *Cell*
- [2] **Goodsell (2021)**
Molecule of the Month : Cellulose Synthase– *PDB-101*
- [3] **Kesten et al. (2019)**
The companion of cellulose synthase 1 confers salt tolerance through a Tau-like mechanism in plants– *Nature Communications*
- [4] **Mccann et al. (1990)**
Direct visualization of cross-links in the primary plant cell wall– *Journal of Cell Science*
- [5] **Paredez et al. (2006)**
Visualization of Cellulose Synthase Demonstrates Functional Association with Microtubules– *Science*
- [6] **Watanabe et al. (2015)**
Visualization of cellulose synthases in Arabidopsis secondary cell walls– *Science*
- [7] **Watanabe et al. (2018)**
Cellulose synthase complexes display distinct dynamic behaviors during xylem transdifferentiation– *Proc Natl Acad Sci USA*
- [8] **Zhang et al. (2014)**
Comparison of Dilute Acid and Sulfite Pretreatment for Enzymatic Saccharification of Earlywood and Latewood of Douglas fir– *BioEnergy Research*

Thème 1 – Structure d'une tige

Question 1

À partir de la figure 1 :

- Expliquez l'utilité de la double coloration.
- Légendez les 12 éléments indiqués sur les coupes de la copie de la figure 1 donnée dans l'annexe A3 (à faire directement sur l'annexe).



Thème 2 – Structure de la cellulose et de la cellulose-synthase

La cellulose est l'un des principaux éléments constitutifs de la paroi des cellules végétales. La synthèse de la cellulose est assurée par les Complexes de Synthèse de la Cellulose (CSC), un ensemble de protéines contenant notamment des enzymes cellulose-synthases. La figure 2 montre une vue d'artiste de ce complexe dans son environnement cellulaire, ainsi que différents modèles moléculaires de la cellulose-synthase.

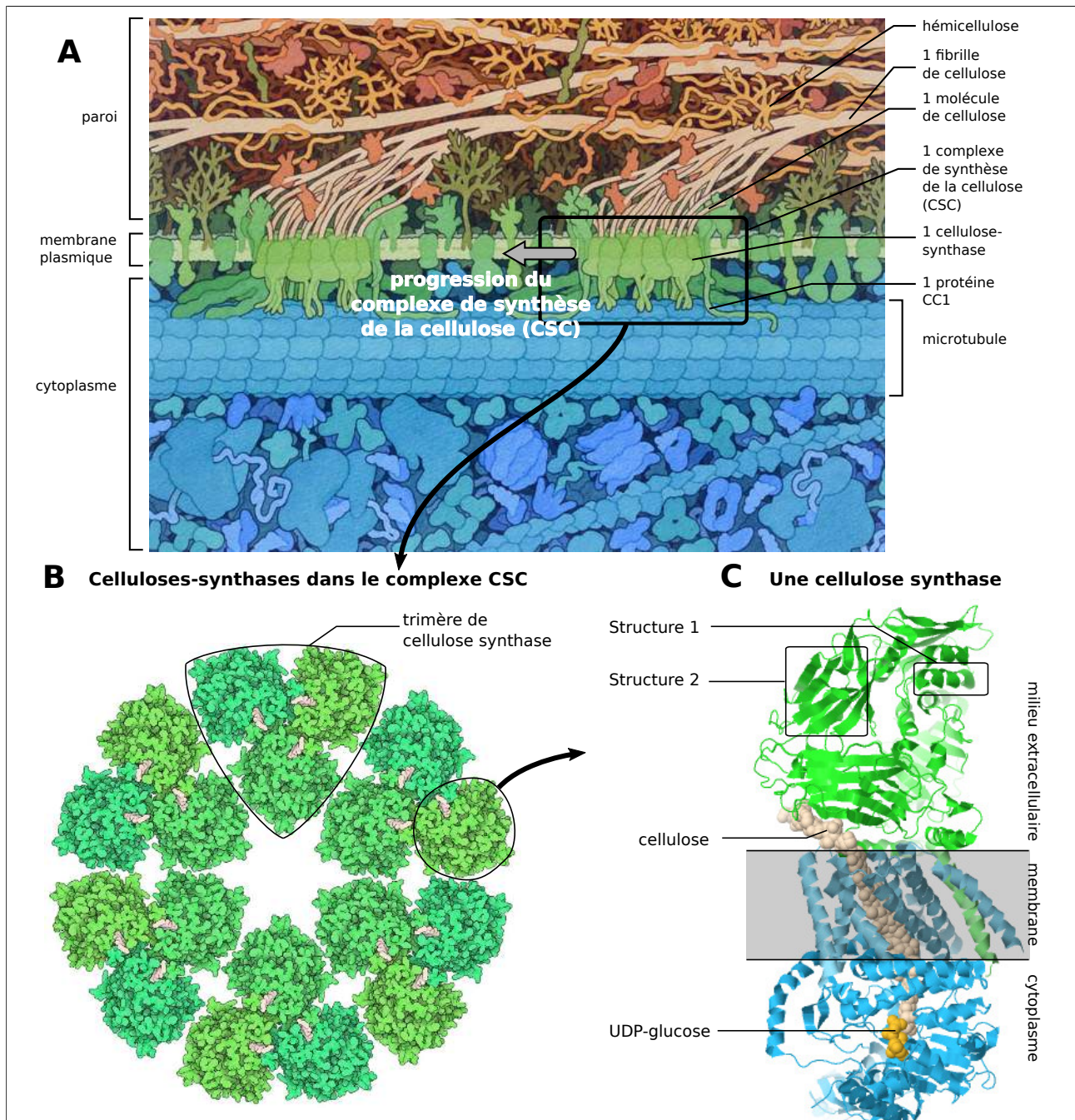


FIGURE 2 - Structure du complexe de synthèse de la cellulose (CSC)

A : Localisation et structure du complexe de synthèse de la cellulose (CSC). **B** : Organisation des cellulose-synthases dans le complexe CSC. **C** : Modèle moléculaire d'une cellulose-synthase. Les couleurs vert et bleu correspondent à deux sous-unités différentes. La cellulose apparaît en rose clair et l'UDP-glucose, substrat de la cellulose-synthase, est indiqué en jaune. (D'après Goodsell (2021) [2])

Question 2

À partir de la figure 2,

- Donnez le nom des structures 1 et 2 légendées figure 2-C ;
- Donnez le type de structure correspondant à une cellulose-synthase (figure 2-C) et à l'ensemble des celluloses-synthases présentes dans le complexe CSC (figure 2-B) ;
- Indiquez combien de molécules de cellulose forment une fibrille de cellulose (légendée figure 2-A), justifiez.

La cellulose est un polymère non ramifié de glucose. On cherche ici à détailler le mécanisme permettant la polymérisation du glucose en molécule de cellulose.

1	$\text{UDP-glucose} + [(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucosyl}]_n \rightleftharpoons \text{UDP} + [(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucosyl}]_{n+1}$	$\Delta G^\circ < 0 \text{ kJ.mol}^{-1}$
2	$\text{glucose} + [(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucosyl}]_n \rightleftharpoons [(1\rightarrow4)\text{-}\beta\text{-D-glucosyl}]_{n+1}$	$\Delta G^\circ > 0 \text{ kJ.mol}^{-1}$
3	$\text{glucose-1-P} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDP-glucose} + \text{PPi}$	$\Delta G^\circ \approx 0 \text{ kJ.mol}^{-1}$
4	$\text{ATP} + \text{glucose} \rightleftharpoons \text{glucose-6-P} + \text{ADP}$	$\Delta G^\circ \ll 0 \text{ kJ.mol}^{-1}$
5	$\text{glucose-1-P} \rightleftharpoons \text{glucose-6-P}$	$\Delta G^\circ \approx 0 \text{ kJ.mol}^{-1}$

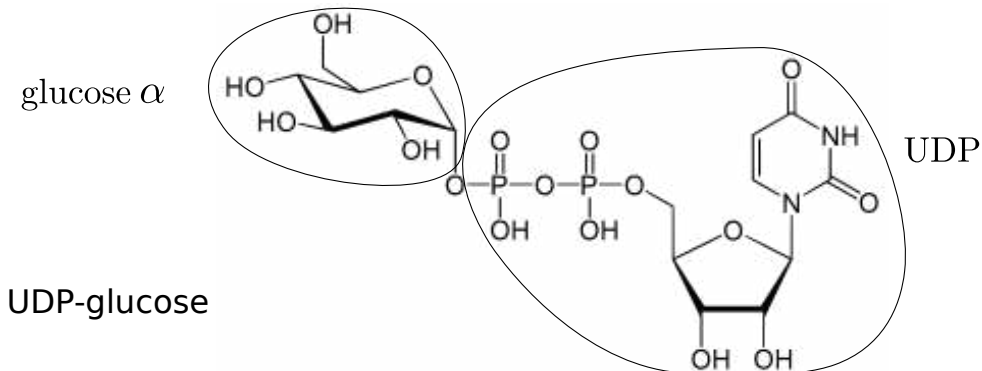


FIGURE 3 - Quelques réactions métaboliques et structure de l'UDP-glucose

Les enthalpies libres ne sont données que de manière qualitative.

Question 3

À partir de la figure 3 :

- identifiez, parmi les réactions 1 et 2, quelle est la réaction catalysée par la cellulose-synthase, justifiez ;
- donnez la suite de réactions permettant d'arriver à l'allongement d'une molécule de cellulose à partir du glucose.

Question 4

À partir de la figure 3 :

- indiquez à quelle famille moléculaire appartient l'UDP ;
- indiquez la signification du "(1 → 4) - β" donné dans la formule de la réaction catalysée par la cellulose-synthase ;
- dessinez sur l'annexe A3 deux glucoses tels qu'ils sont polymérisés dans la cellulose ;
- schématisez l'association de plusieurs molécules de cellulose en fibrilles de cellulose. Un glucose sera représenté par un cercle.

Question 5

À partir des figures 2 et 3 et de vos connaissances, expliquez en quoi la structure d'une cellulose-synthase et l'organisation des cellulose-synthases entre elles est à l'origine de la fonction de la cellulose dans la paroi des cellules végétales. Vous ne prendrez pas en compte les microtubules qui seront étudiés dans le thème suivant, et vous répondrez soit par un texte de 10 lignes soit par un schéma.

Thème 3 – Implication des microtubules dans le contrôle de la biosynthèse de la cellulose

De nombreux processus cellulaires impliquant des mouvements de molécules (division cellulaire, la motilité ou encore la morphologie cellulaire) dépendent d'éléments du cytosquelette tels que les microtubules.

Les microtubules sont des hétéropolymères de tubuline α et β polarisés (existence d'un pôle + et d'un pôle -). Certaines protéines motrices (dynéines et kinésines par exemple) sont capables de détecter cette orientation et de se déplacer le long des microtubules dans une direction unique (dynéines : + vers -, kinésines : - vers +).

Ce thème cherche à vérifier :

- si les microtubules interagissent avec le complexe de synthèse de la cellulose, tel que suggéré à la figure 2 ;
- si la cellulose-synthase se déplace en suivant les microtubules via des protéines motrices.

3.1 Interaction entre microtubule et cellulose-synthase

Question 6

- Expliquez brièvement le principe de construction d'une protéine fusion, et l'intérêt d'une telle construction ;
- À partir de l'analyse de la figure 4, concluez à propos de l'implication des microtubules sur la localisation de la cellulose-synthase ;
- Indiquez si les résultats apportés par la figure 4 suffisent à affirmer que les microtubules guident la polymérisation de la cellulose. Justifiez.

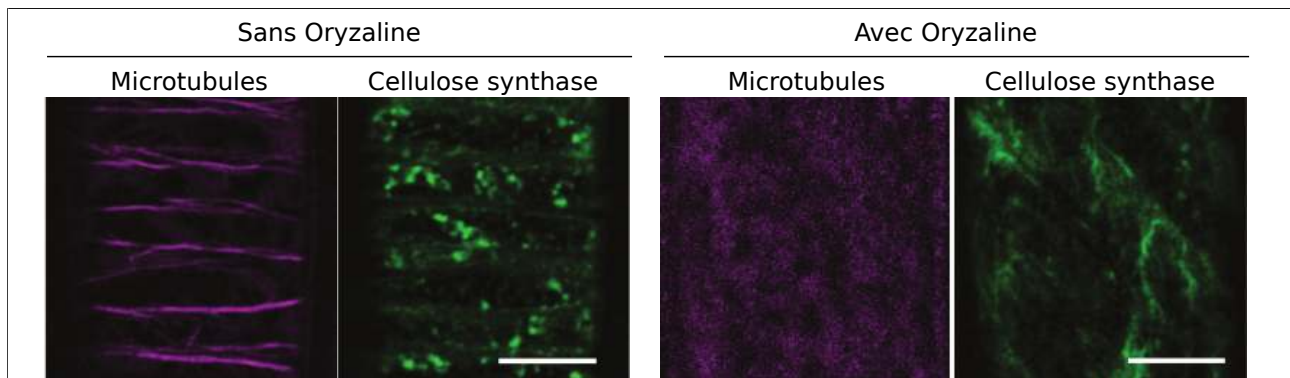


FIGURE 4 - Effet de la déstabilisation des microtubules sur la localisation de la cellulose-synthase

On construit un mutant d'*Arabidopsis thaliana* exprimant deux protéines fusion : la première est la cellulose-synthase couplée à un fluorochrome vert, la seconde est une tubuline couplée à un fluorochrome magenta. On rappelle que les tubulines sont des protéines constituant les microtubules. Des cellules sont ensuite observées au microscope à fluorescence, en absence ou en présence d'oryzaline, un agent qui induit la désorganisation des microtubules. (D'après Watanabe et al. (2015) [6])

3.2 Contrôle partiel de la dynamique de la cellulose-synthase par les microtubules

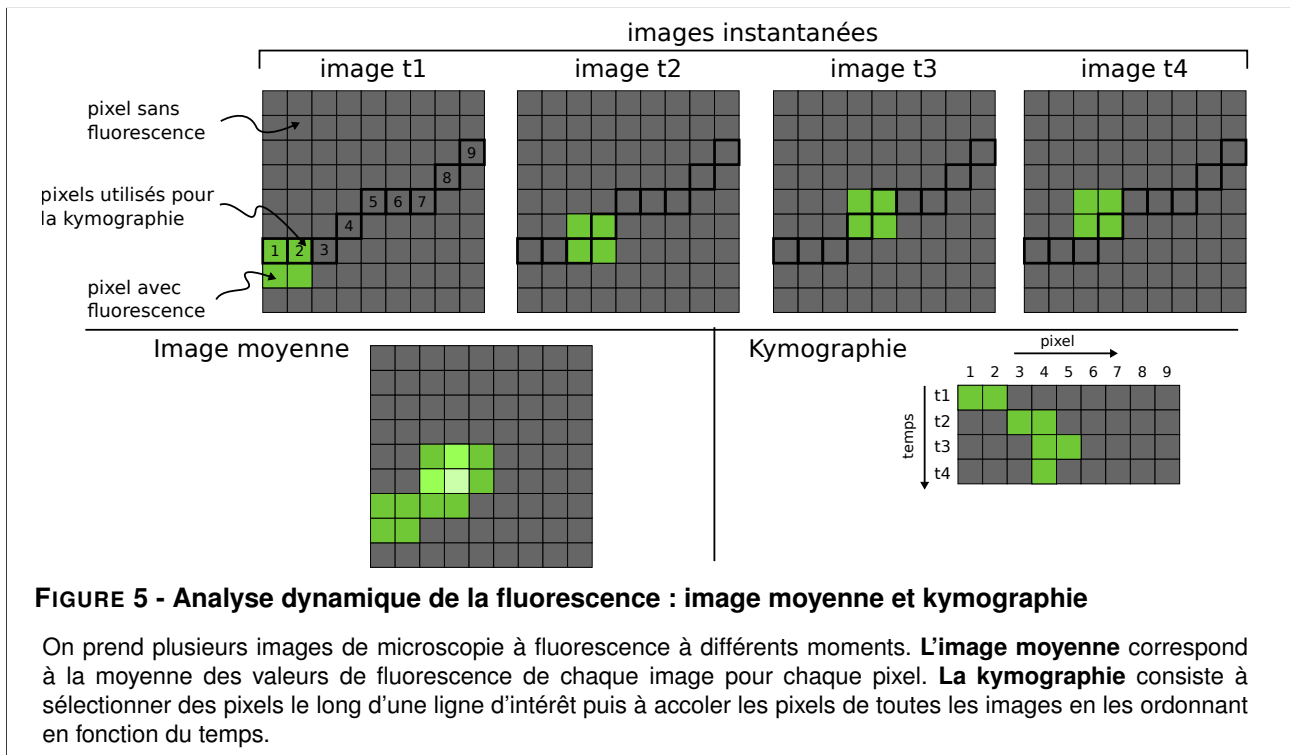
On cherche maintenant à vérifier que les microtubules sont impliqués dans le déplacement du complexe de synthèse de la cellulose. Pour cela on peut faire une étude dynamique de la fluorescence des protéines fusion en réalisant des images moyennes de fluorescence ou des kymographies, dont les principes sont expliqués à la figure 5.

Question 7

Sur l'annexe A3, et en vous inspirant des situations déjà représentées, dessinez schématiquement quel devrait être l'aspect d'une image moyenne et d'une kymographie d'une protéine fluorescente

- faisant un aller-retour sur des microtubules ;
- ayant une trajectoire unidirectionnelle sur des microtubules.

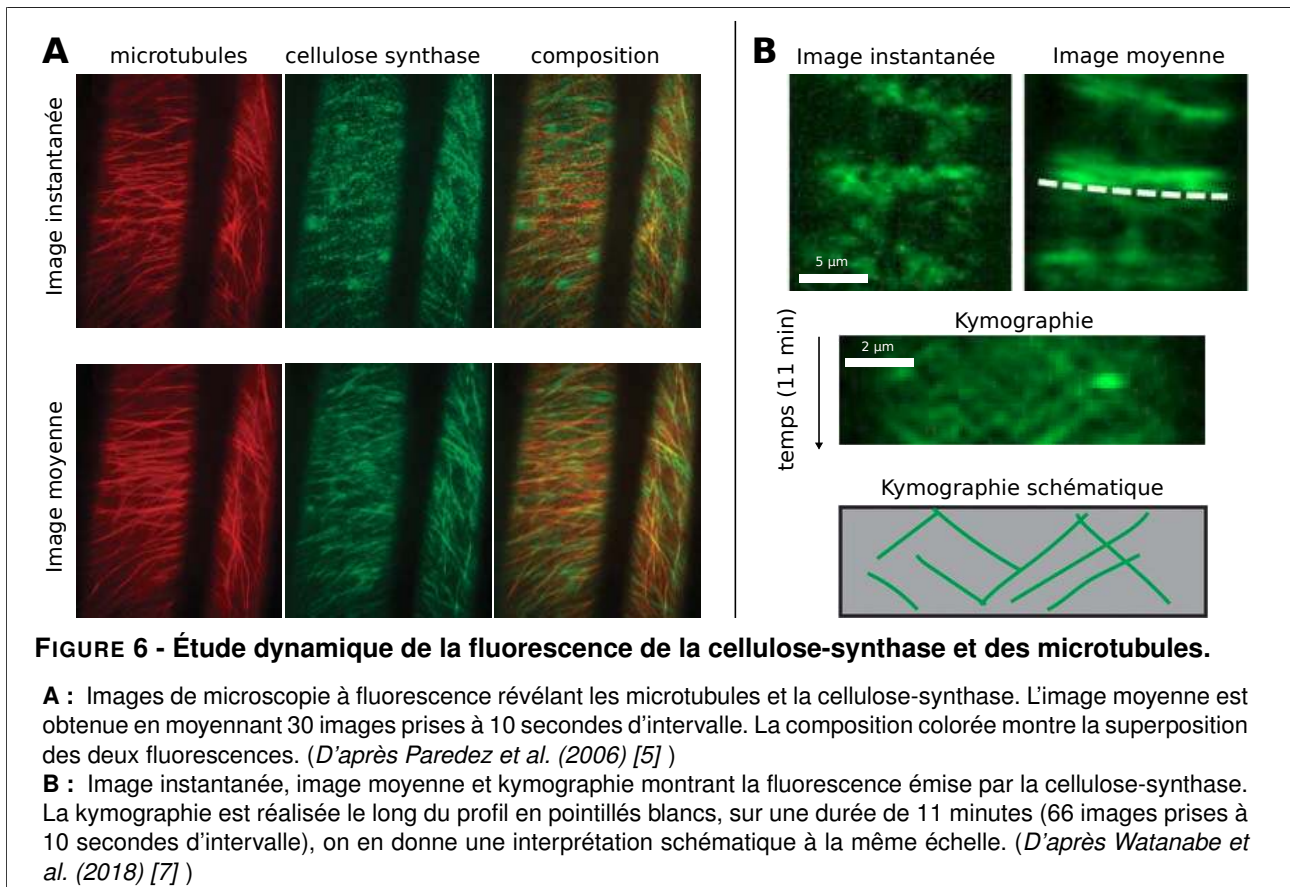
Expliquez en quoi kymographie et image moyenne sont deux techniques complémentaires pour l'objectif visé.



Question 8

Analysez la figure 6 de sorte à en tirer des conclusions sur :

- la mobilité ou non des microtubules et de la cellulose-synthase ;
- le type de déplacement des celluloses synthases (sens et direction) ;
- la vitesse des cellulose-synthases.



Question 9

En supposant que la kymographie présentée à la figure 6 ne couvre qu'un seul microtubule, discutez de l'éventuelle implication de protéines motrices du type kinésine ou dynéine dans le déplacement du complexe de synthèse de la cellulose.

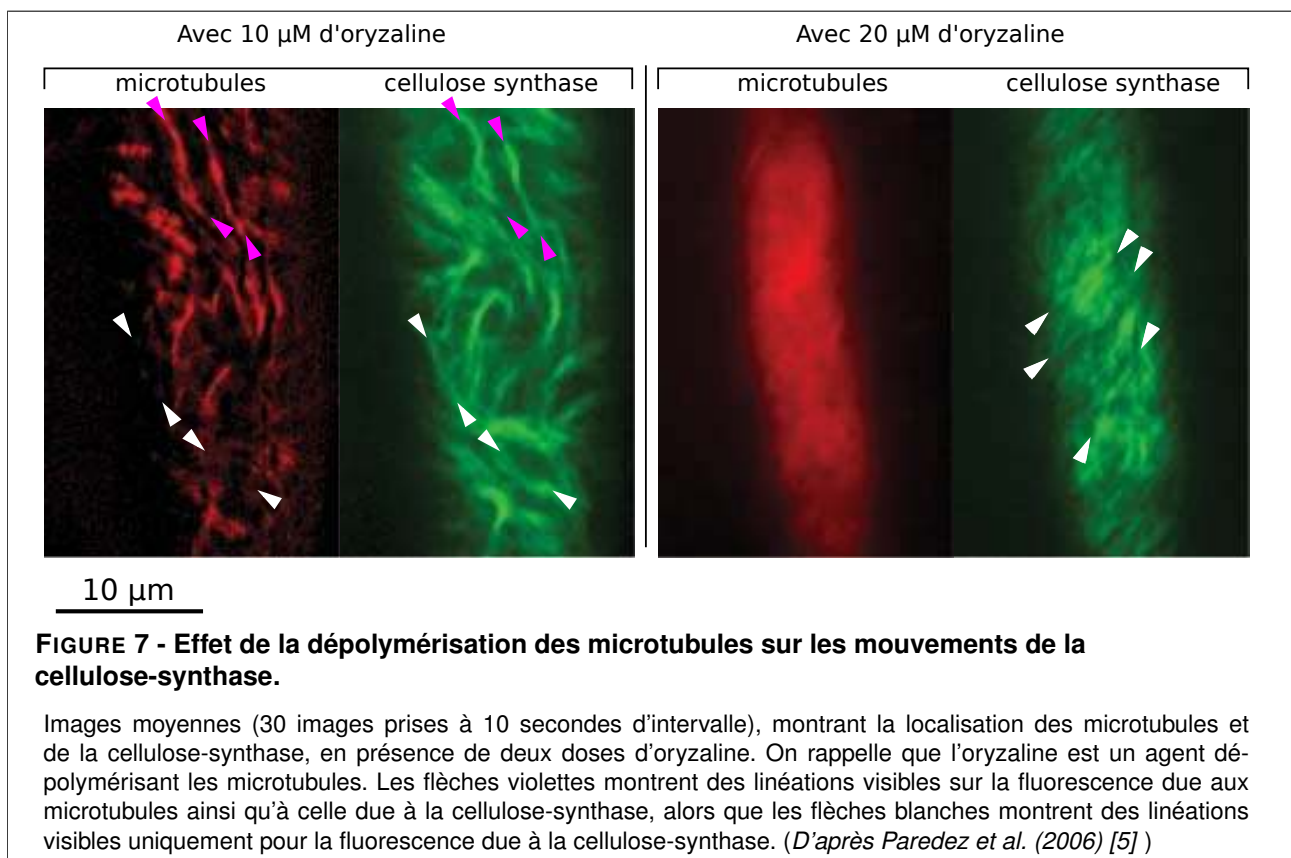
3.3 Moteurs du déplacement de la cellulose-synthase

La figure 7 montre des images moyennes de fluorescence due aux microtubules et à la cellulose-synthase en présence d'oryzaline, un agent provoquant la déstabilisation des microtubules. Les auteurs de cette publication en tirent deux conclusions :

1. la progression de la cellulose-synthase ne dépend pas (ou pas seulement) de protéines motrices interagissant avec les microtubules ;
2. les microtubules servent seulement de guide à la progression de la cellulose-synthase.

Question 10

- À partir d'une analyse de la figure 7, vous discuterez les deux conclusions faites par les auteurs.
- Critiquez la figure 7 et proposez une solution pour répondre à cette critique.



Question 11

En vous basant sur la figure 2, expliquez pourquoi les auteurs proposent que la polymérisation de la cellulose puisse être elle-même le moteur de la progression de la cellulose-synthase.

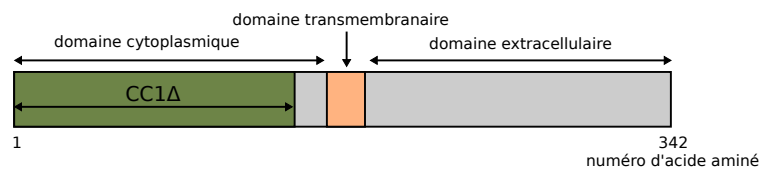
Thème 4 – Implication de la protéine CC1 dans l'organisation des microtubules

Le complexe de synthèse de la cellulose contient, en plus des celluloses-synthases, certaines protéines dont on suppose une implication dans la dynamique du complexe. L'une d'entre elles, la protéine CC1 (pour Companion Cellulose-Synthase 1) fait l'objet de ce thème. Une représentation schématique de cette protéine est présentée en figure 2 : c'est une protéine de 342 acides aminés, transmembranaire, sans structure secondaire remarquable.

On cherche dans ce thème à comprendre la fonction de la protéine CC1.

4.1 Implication de CC1 dans la polymérisation des microtubules

On cherche dans un premier temps à vérifier si la protéine CC1 peut interagir avec les microtubules. Pour ceci, un mutant de la protéine CC1 est généré, de telle sorte que seuls les 120 premiers acides aminés de la protéine sont conservés ; ce mutant, présenté ci-dessous, se nomme CC1 Δ .



Question 12

À partir de la figure 8 :

- déterminez les masses moléculaires de la protéine CC1 Δ , et des tubulines (α et β ont des masses moléculaires similaires) ;
- indiquez si les tubulines peuvent se polymériser seules, argumentez votre réponse ;
- interprétez la bande marquée 1 ;
- interprétez la diversité des bandes d'ordre supérieur et concluez sur l'effet de CC1 Δ .

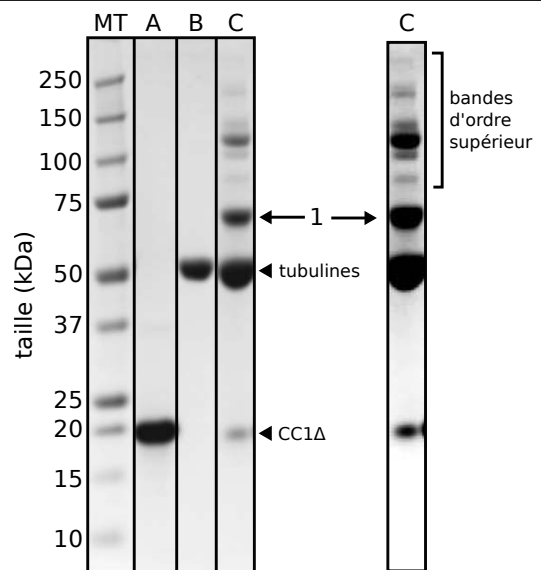
FIGURE 8 - Electrophorèse à partir d'un mélange de tubulines et de protéine CC1 Δ

Une électrophorèse (dont le protocole n'est pas détaillé) est réalisée en prenant :

- piste A : la protéine CC1 Δ seule
- piste B : un mélange de tubulines α et β
- piste C : un mélange tubulines α , tubuline β et CC1 Δ
- piste MT : un mélange de protéines dont la taille est connue (marqueurs de taille)

La piste C est donnée deux fois, la seconde version est contrastée pour mieux mettre en évidence les bandes d'ordre supérieur.

(D'après Kesten et al. (2019) [3])

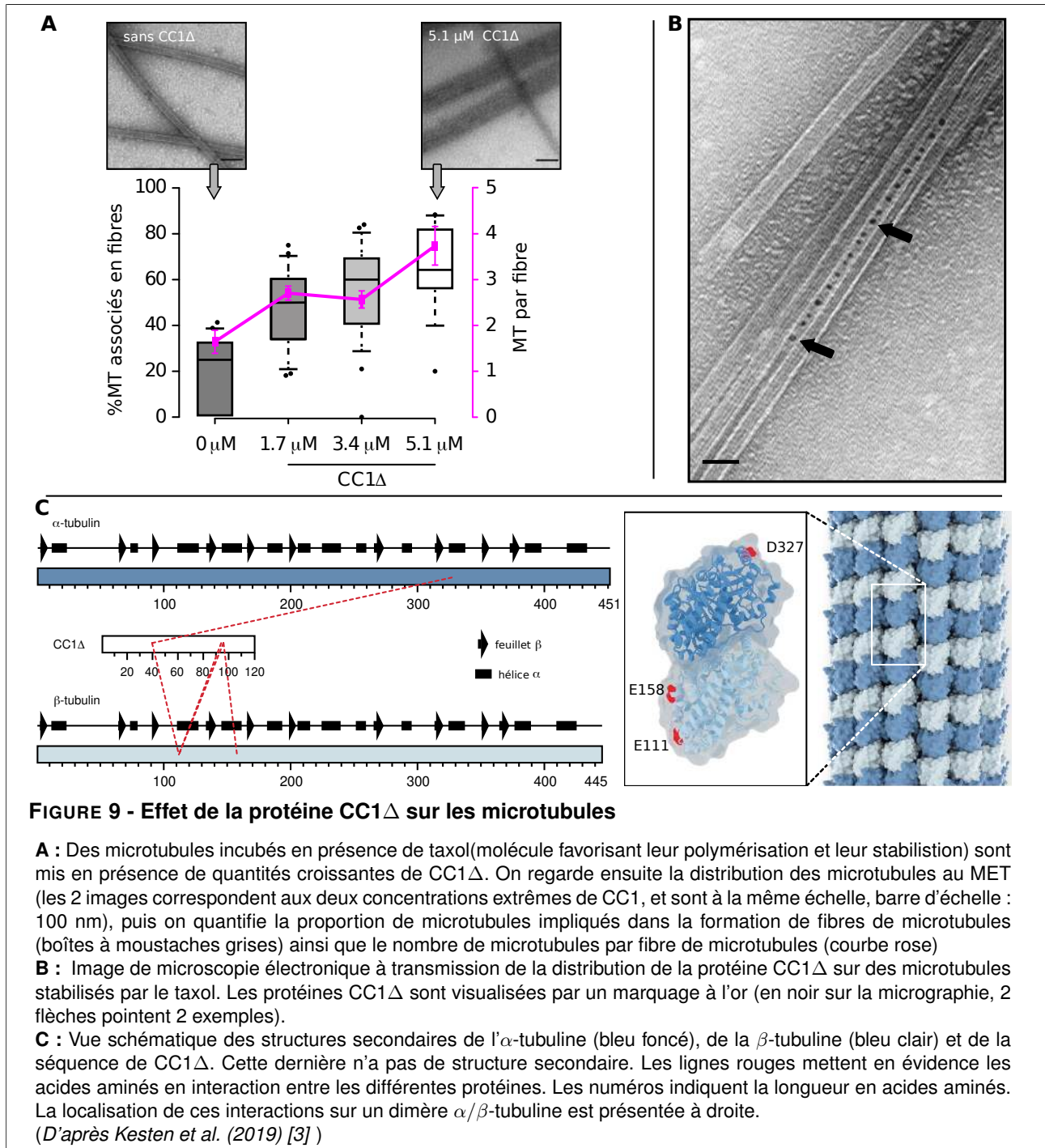


4.2 Implication de CC1 dans l'association de microtubules en fibres

On cherche maintenant à vérifier si la protéine CC1 peut avoir un effet sur des microtubules entiers. Pour ce faire, des microtubules sont préparés en présence de taxol, substance favorisant la polymérisation des tubulines en microtubules et leur stabilisation.

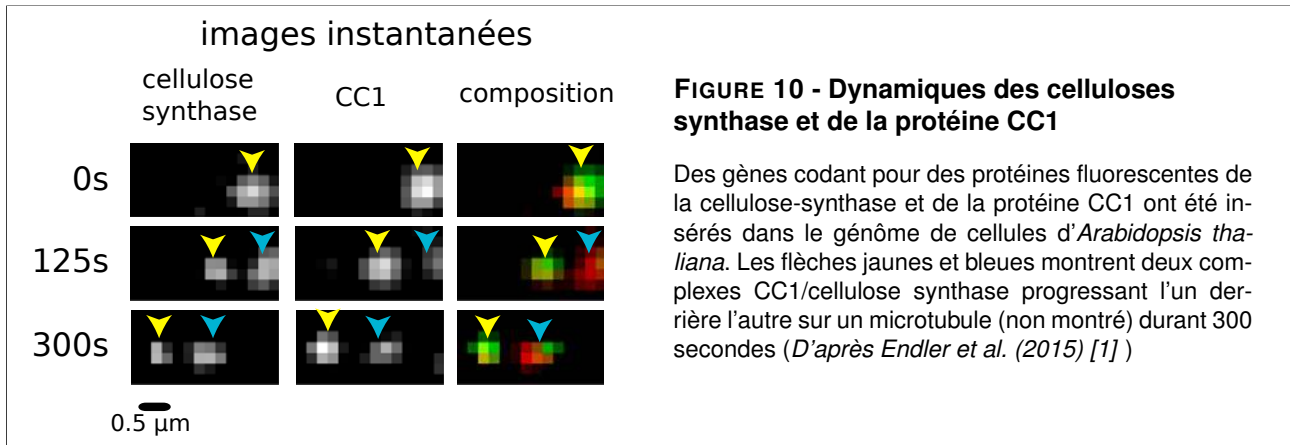
Question 13

- À partir de la figure 9-A, identifiez l'effet de la protéine CC1 Δ sur les microtubules.
- À partir des figures figure 9-B et 9-C, proposez un mécanisme permettant d'expliquer l'effet de la protéine CC1 Δ sur les microtubules.



Thème 5 – Synthèse

Des expériences complémentaires avec des gènes codant pour des protéines CC1 et des cellulose-synthase fluorescentes ont été réalisées (voir figure 10). Les protéines CC1 fluorescentes contiennent l'intégralité de la séquence de la protéine CC1 (partie transmembranaire et extracellulaire incluses). Les auteurs de cette étude concluent de ces expériences que CC1 et cellulose synthase sont colocalisées, ce qui témoigne d'une interaction entre les deux protéines, probablement dans la membrane ou dans le domaine extracellulaire.



Question 14

À partir de vos connaissances, de l'ensemble des conclusions des différentes parties de ce sujet et des informations complémentaires données ci-dessus, vous réaliserez un schéma bilan des mécanismes de biosynthèse et du contrôle de la formation de la paroi cellulosique, de sorte à en expliquer les fonctions. Vous envisagerez :

- les transformations du glucose ;
- le contrôle exercé par le cytosquelette sur la formation de la cellulose ;
- les éléments contrôlant la dynamique du cytosquelette ;
- les éléments permettant d'expliquer l'implication du complexe de synthèse de la cellulose dans la relation structure/fonction de la cellulose.

FIN DU SUJET