

SESSION 2023

---

**AGRÉGATION EXTERNE**  
Concours spécial docteur

Section

**SCIENCES DE LA VIE, SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**Étude de dossier scientifique**

*Le candidat est conduit à analyser et à présenter un dossier scientifique, fourni par le jury, tant dans sa dimension scientifique (intérêts, résultats obtenus) que dans ses dimensions éducatives, professionnelles ou citoyennes.  
Le dossier peut contenir des données scientifiques (et/ ou technologiques) en langue anglaise.*

Durée : 4 heures

---

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout autre dictionnaire et de tout matériel électronique (y compris la calculatrice) est rigoureusement interdit.

Il appartient au candidat de vérifier qu'il a reçu un sujet complet et correspondant à l'épreuve à laquelle il se présente.

Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence. De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.

**NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.  
Le fait de rendre une copie blanche est éliminatoire.**

**Tournez la page S.V.P.**

## **Les matrices extracellulaires des cellules eucaryotes : composition, fonctions, mise en place, devenir.**

En vous basant sur vos connaissances et sur les 6 documents fournis, vous construirez une dissertation intégrant les exigences suivantes :

- une version adaptée à des élèves de lycée de l'une des figures du dossier à votre choix. Le cas échéant, il est attendu une adaptation en français ;
- un tableau comparatif des matrices extracellulaires animales et végétales. Vous êtes libre de présenter un tableau unique ou de le morceler au fil de votre devoir ;
- un glossaire de 8 à 10 mots clefs ;
- l'exploitation de tous les documents. Il est indispensable d'indiquer clairement le numéro du document auquel vous faites référence.

**INFORMATION AUX CANDIDATS**

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie. Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

**AGRÉGATION SPÉCIAL DOCTEUR**  
**Sciences de la vie, de la terre et de l'univers**

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EAD	1600D	102	8085



### Document 1 : la biosynthèse du collagène de type I

*d'après Tasab et al., EMBO, 2000 ; Kadler et al., Biochem.J, 1996  
d'après Canty E. et al, Journal of Cell Biology, 165 (4), 2004*

Le collagène de type I est la molécule de collagène la plus abondante chez les Mammifères : produite par de nombreux types cellulaires elle se présente sous la forme d'un hétérotrimère formé de deux chaînes  $\alpha 1$  et d'une chaîne  $\alpha 2$ . Ces deux chaînes sont produites sous la forme de précurseurs, les procollagènes  $\text{pro}\alpha 1$  et  $\text{pro}\alpha 2$ , puis assemblées et maturées.

#### 1.1 - Localisation du collagène de type I et de ses précurseurs

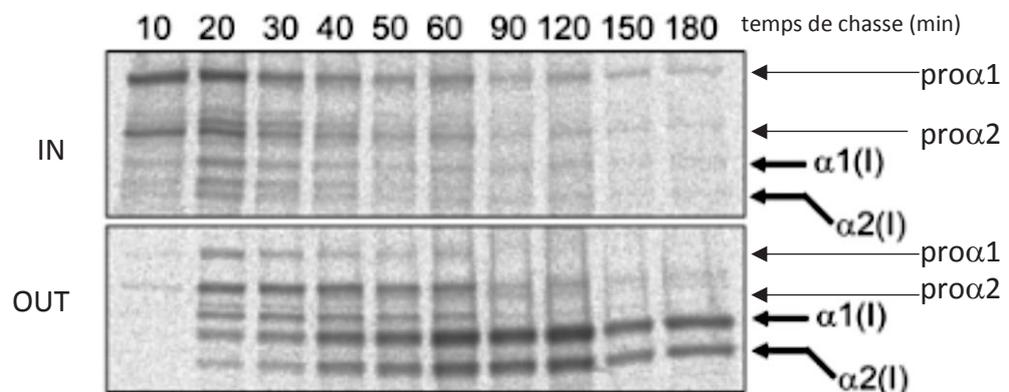
Des tendons d'embryons de poulet sont soumis au protocole de pulse et chasse suivant :

- culture pendant une heure en présence de proline radioactive, marquée au  $^{14}\text{C}$
- poursuite de la culture durant 10 à 180 minutes dans un milieu non radioactif enrichi en proline non marquée
- récupération du milieu de culture (out) ou du contenu intracellulaire (in)
- électrophorèse en conditions dénaturantes dans le système SDS-Page
- autoradiographie
- identification des chaînes de collagènes et de leurs précurseurs par leur poids moléculaire (document 1.1.a)

L'expérience est réitérée pour la chasse de 30 min, dans un gel de meilleure résolution autorisant l'identification de molécules supplémentaires (document 1.1.b) : on reconnaît notamment des chaînes de procollagène possédant une extrémité N-terminale intacte mais une extrémité C-terminale tronquée (notés  $\text{pN}\alpha 1$  et  $\text{pN}\alpha 2$ ) et des procollagènes possédant à l'inverse une extrémité C-terminale intacte mais une extrémité N-terminale tronquée (notés  $\text{pC}\alpha 1$  et  $\text{pC}\alpha 2$ )

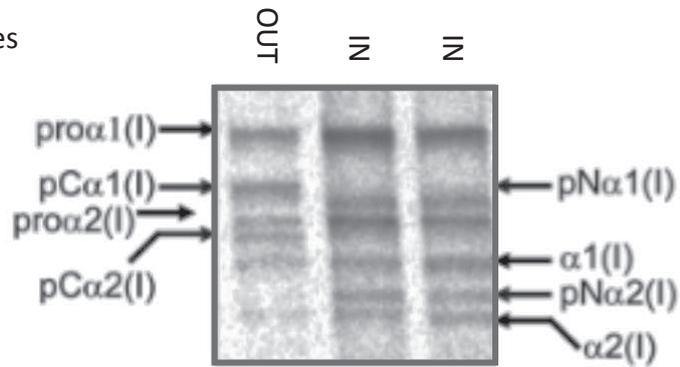
#### Document 1.1.a

Pulse et chasse de durée variable



Document 1.1.b

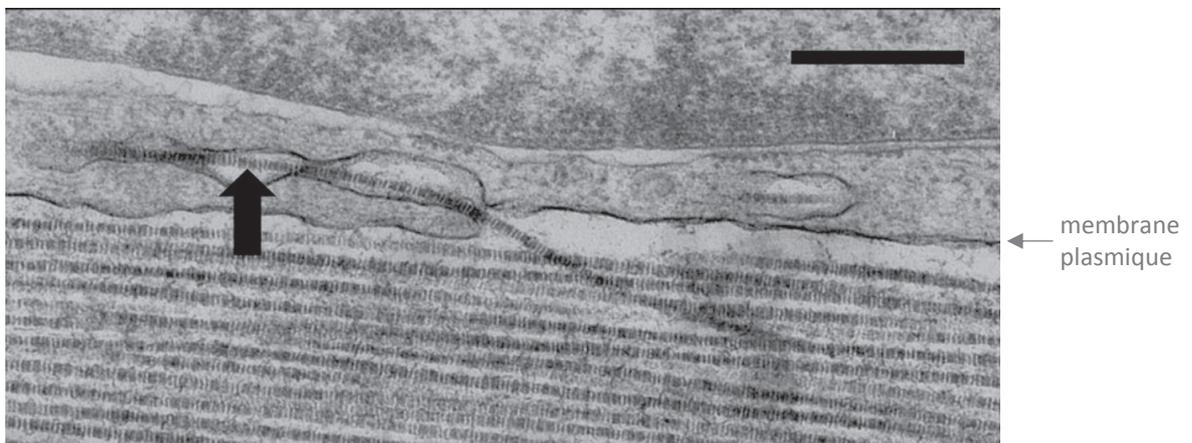
Pulse et chasse de 30 minutes



Document 1.1.c.

Les cellules de tendons sont aussi utilisées pour une observation au microscope électronique à transmission. Le document 1.1.c montre une coupe ultra-fine partielle de cellule de tendon fixée ; la grosse flèche désigne une fibre de collagène au cours de son dépôt. Barre : 500 nm.

Document 1.1.c



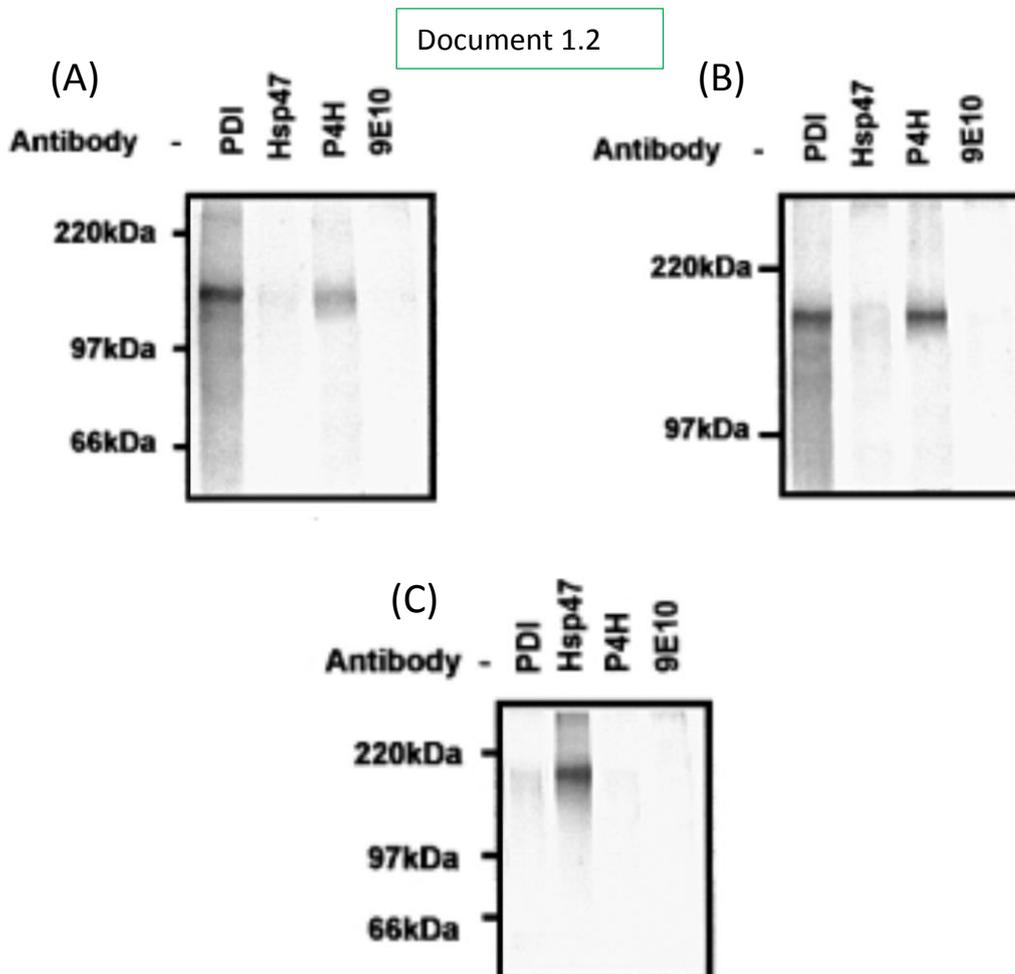
## 1.2 - Quelques éléments de la maturation du collagène I

On produit *in vitro* des chaînes pro $\alpha$ 1 ou pro $\alpha$ 2 monomériques. Ces chaînes sont ajoutées à un broyat de fibroblastes en présence de DSP : le DSP provoque l'établissement de liaisons covalentes réversibles (cross-linking) entre protéines liées. Le mélange subit ensuite une immunoprécipitation utilisant l'un des anticorps suivants :

- anti-PDI : PDI ou protéine-disulfide-isomérase est une enzyme du réticulum endoplasmique granuleux, catalysant la formation des ponts disulfures
- anti-Hsp47 : Hsp47 est une protéine chaperone du réticulum endoplasmique granuleux
- anti-P4H : P4H ou prolyl-4-hydroxylase est une enzyme du réticulum endoplasmique granuleux, catalysant l'hydroxylation des prolines
- anticorps 9E10, qui reconnaît la protéine c-myc.

Les immunoprécipitats sont dénaturés afin de rompre le cross-linking, puis analysés par Western-blot.

L'expérience est réitérée en partant d'un trimère de procollagène composé de 2 chaînes pro $\alpha$ 1 et d'une chaîne pro $\alpha$ 2.



Document 1.2 :

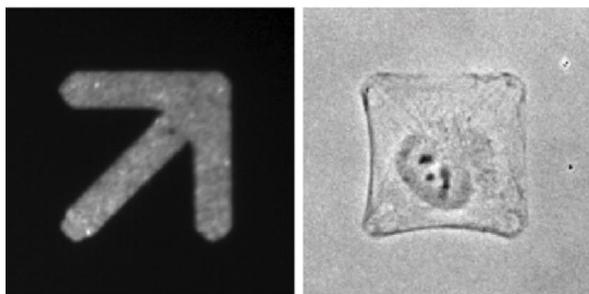
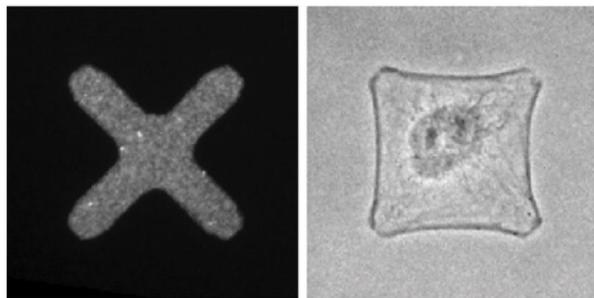
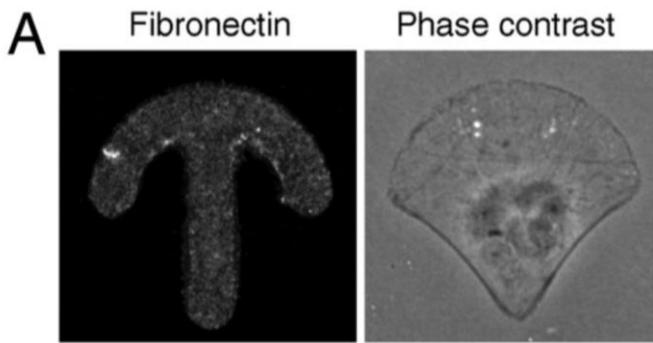
Western blot des immunoprécipitats révélé avec (A) un anticorps anti-pro $\alpha$ 2, à partir d'une expérience menée sur des chaînes pro $\alpha$ 2 monomériques, (B) un anticorps anti-pro $\alpha$ 1, à partir d'une expérience menée sur des chaînes pro $\alpha$ 1 monomériques, (C) un anticorps anti-pro $\alpha$ 2, à partir d'une expérience menée sur des trimères de procollagène.

**Document 2 : effet d'un micro patron de fibronectine sur la morphologie d'un fibroblaste isolé.**

*d'après Théry et al, Cell Motility and Cytoskeleton, 2006, et Théry et al, PNAS, 2016*

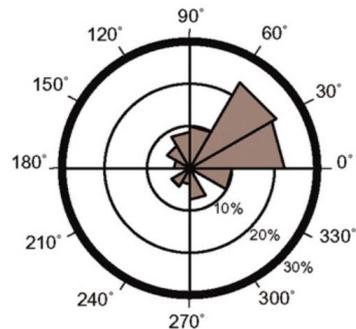
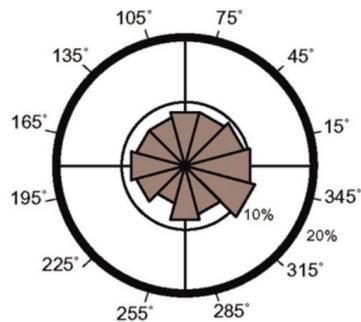
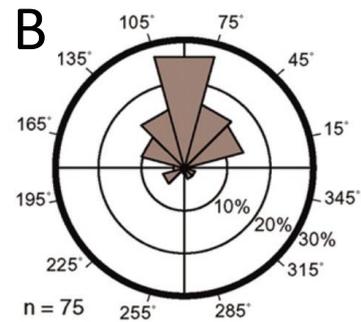
Divers micro patrons de fibronectine sont collés sur des lames de verre puis recouverts d'un unique fibroblaste.

La morphologie des fibroblastes est observée au microscope à contraste de phase. Diverses protéines sont marquées successivement : l'actine, la vinculine, la tubuline. Les positions du noyau, de l'appareil de Golgi et du centrosome sont localisées : on en déduit un vecteur noyau-centrosome.



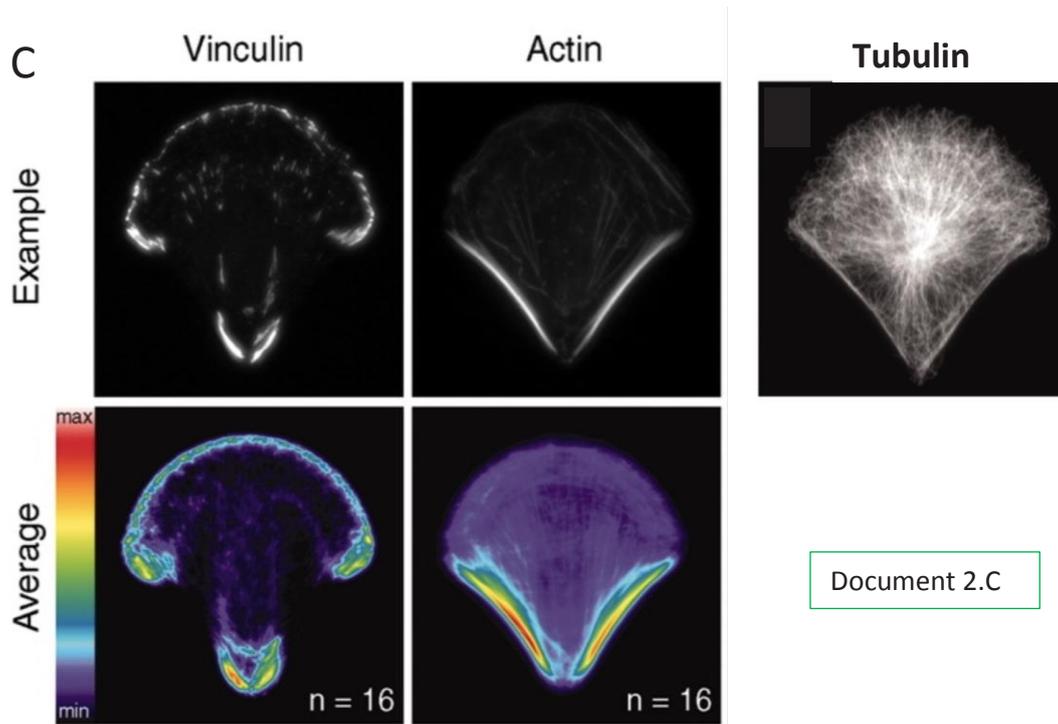
Document 2.A

*A - Fibroblast cell plated on a fibronectin crossbow micropattern (up), a cross pattern (middle) or an arrow pattern (down) and visualized in phase contrast. Each cell : 25  $\mu$ m*



Document 2.B

*B - Nucleus centroid and centrosome centroid define the nucleus-centrosome vector. This vector was used as an indicator of internal cell polarity and measured on 75 cells plated on each micropatterns. The circular histogram represents the proportions of nucleus-centrosome vectors pointing in each angular sector.*



C- Vinculin labeled with anti-vinculine, actin labeled with phalloïdin or MTs labeled with anti- $\alpha$ -tubulin in a fixed cell platted on a crossbow.

En haut : cellules observées en microscopie à fluorescence

En bas : moyenne de l'intensité du marquage sur 16 cellules.

### Document 3 : collagène et leucocytes

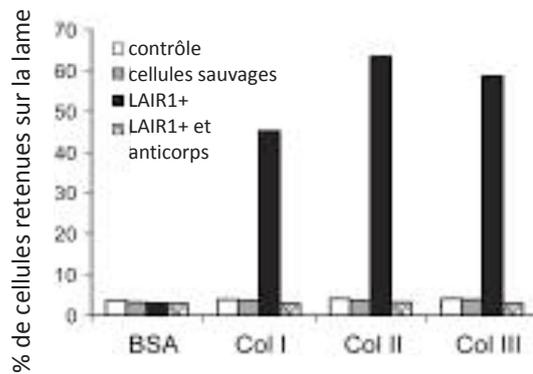
d'après Lebbing R. et al., JEM, 2006 ; Rowley A. et al., Bioengineering and Biotechnology, 2020.

La protéine LAIR1 (leucocyte-associated immunoglobuline-like receptor 1) est une protéine transmembranaire identifiée dans la membrane de tous les leucocytes.

3.1 - On recouvre une plaque de verre avec de la protéine BSA, du collagène I, du collagène II ou du collagène III ; on y dépose des cellules fluorescentes puis, après rinçage, on dénombre la proportion de cellules fluorescentes retenues sur la lame de verre.

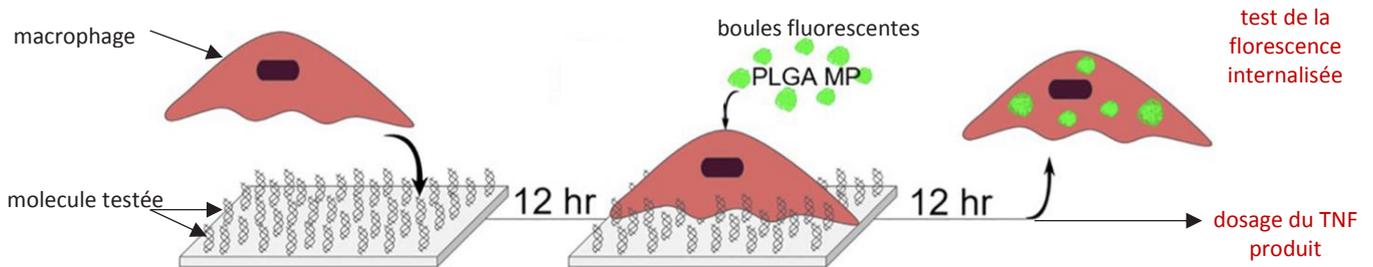
L'expérience est réalisée dans 4 conditions :

- contrôle sans cellule
- cellule sauvage : la souche cellulaire fluorescente n'exprime pas LAIR1
- cellule LAIR1+ : cellule transgénique exprimant LAIR1
- cellule transgénique exprimant LAIR1, incubée plusieurs heures avec un anticorps anti-LAIR1



Document 3.1

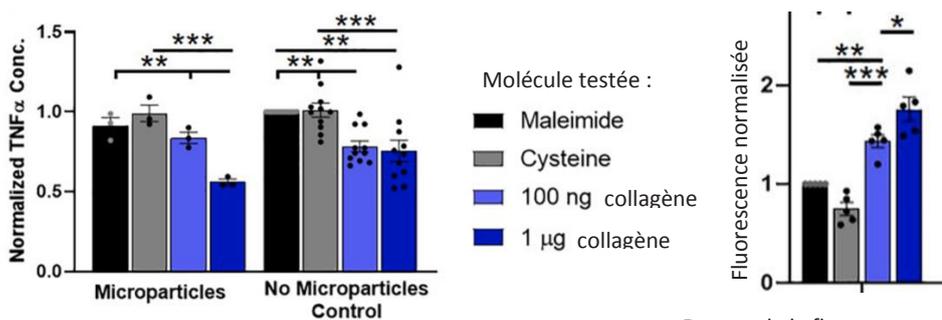
3.2 - On dépose des macrophages sur un support recouvert de molécules organiques à tester ; on évalue ensuite leur capacité à phagocyter des boules fluorescentes micrométriques et leur production de TNF (*tumor necrosis factor*).



Document 3.2

#### Réponse des macrophages aux molécules fixées :

toutes les valeurs sont normalisées par rapport à la réponse en présence de maléimide. Le maléimide est une molécule se liant aux cystéines des protéines.



Dosage du TNF produit, en absence ou en présence des boules fluorescentes micrométriques

Dosage de la fluorescence intracellulaire

Les astérisques montrent des résultats significativement différents.

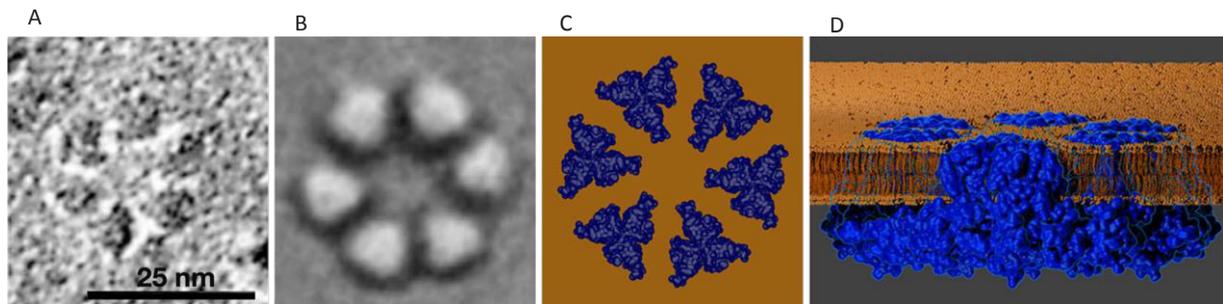
## Document 4 : la synthèse de la cellulose

D'après Haigler et Roberts, *Cellulose*, 2019 ; Fernandez et al., *CBRP*, 2012 ; Watanabe et al., *PNAS*, 2018

La synthèse de la cellulose est assurée par des enzymes, les celluloses synthases ou CESA, dont il existe plusieurs isoformes.

### 4.1 - Structure des cellulose-synthases

Document 4.1



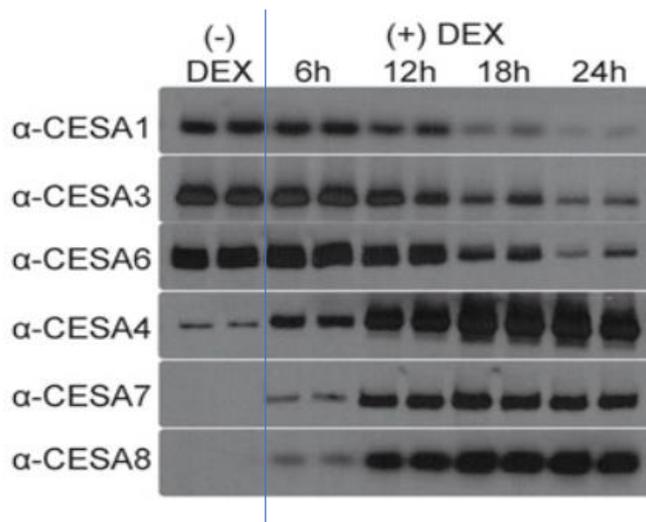
Document 4.1 : A – Observation d’une réplique après cryofracture de protonema de la mousse *Physcomitrella patens*. B – Image moyenne obtenue à partir d’un grand nombre d’observations du type de la photo précédente. C – Modèle construit à partir de l’association répétée de 3 modèles moléculaires de la sous-unité de CESA. D – Modèle moléculaire en place dans un modèle de membrane.

### 4.2 - Étude de la transition paroi primaire paroi secondaire

Les cultures de cellules d’épiderme d’hypocotyle d’*Arabidopsis thaliana* induites constituent un modèle expérimental permettant d’étudier *in vitro* la différenciation de cellules en trachéides de xylème. On utilise ici ce modèle pour suivre la transition entre la synthèse de la paroi primaire et la synthèse de la paroi secondaire.

#### 4.2.a Western blot des cellulose-synthases

Avant induction (DEX-) et de 6 à 24 h après induction (DEX+), on extrait et on révèle les isoformes de la cellulose-synthase dans des cellules d’épiderme d’hypocotyle. Entre 6 et 18 h s’effectue la transition entre la synthèse de paroi primaire et de paroi secondaire.

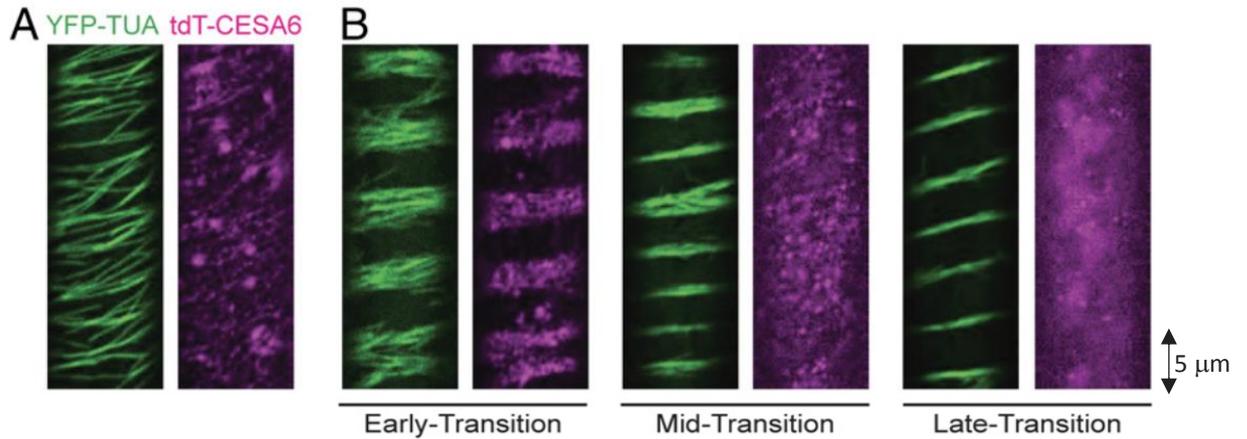


Document 4.2.a

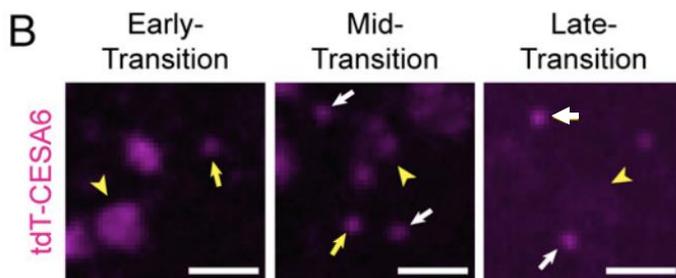
Western blots of an induction time course of epidermic cells.

4.2.b Utilisation de souches transgéniques de cellules exprimant la cellulose-synthase CESA6 couplée à une protéine magenta et la tubuline  $\alpha$  couplée à la GFP. Observation de la fluorescence avant induction (A) et après induction (B).

Document 4.2.b



4.2.c Utilisation de souches transgéniques exprimant la cellulose-synthase CESA6 magenta : détail de la localisation subcellulaire de CESA6.



Document 4.2.c

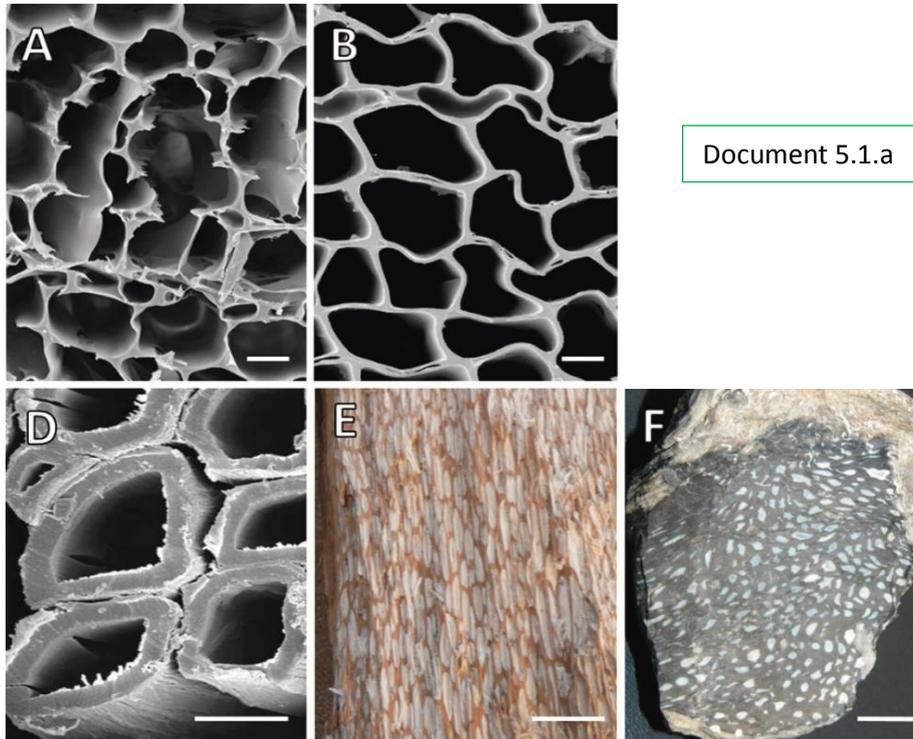
Zoomed-in views show the localization of CESA 6 within Golgi (yellow arrowheads), small exocytosis vesicles (yellow arrows) and endocytosis vesicles (white arrows).  
Scale bars : 2  $\mu\text{m}$

**Document 5 : devenir de la paroi des cellules végétales  
lors de l'enfouissement de débris végétaux continentaux**

*d'après Hibbett D et al., Current Biology, 2016 et Cai et Tien, J.Biol.Chem, 1991*

**5.1 - Dégradation du bois par les champignons du sol**

5.1.a Effet de la pourriture blanche et de la pourriture brune sur des cellules de bois



Document 5.1.a

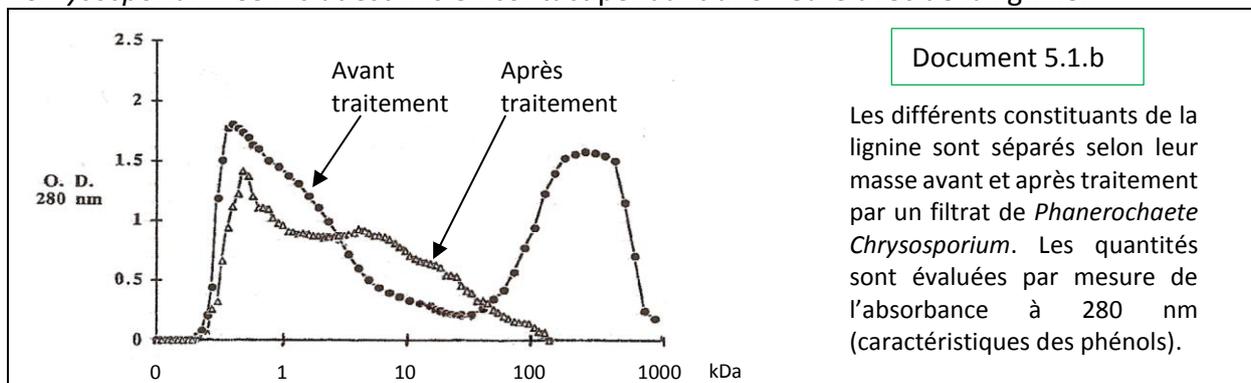
Document 5.1.a : Characteristics of fungal wood degradation.

Scanning electron micrographs (A-D) of transverse wood sections showing white rot (A and D) or brown rot (B).

White rot causes a thinning of cell walls and an erosion that removes all cell wall layers, resulting in complete degradation of some cells (A). Diffuse attack caused by brown rot fungi leaves a residue of degraded cells that consists primarily of lignin with little cellulose remaining (B). Selective attack by a white pocket rot fungus results in delignified cells where the middle lamella between cells is degraded but the cellulose-rich secondary wall remains (D). Tangential section of contemporary wood showing white pockets of cellulose left after decay (E). Tangential section of fossil *Araucarioxylon* wood from Triassic Period with white pocket rot (F). Bar = 10 μm in A-D ; 2 cm in E-F.

5.1.b Action des exoenzymes sécrétées par le champignon *Phanerochaete chrysosporium*

*Phanerochaete Chrysosporium* se développe sur le bois mort et appartient à la pourriture blanche. On réalise un filtrat à partir de résidus de bois occupés par *Phanerochaete Chrysosporium*. Ce filtrat est mis en contact pendant une heure avec de la lignine.

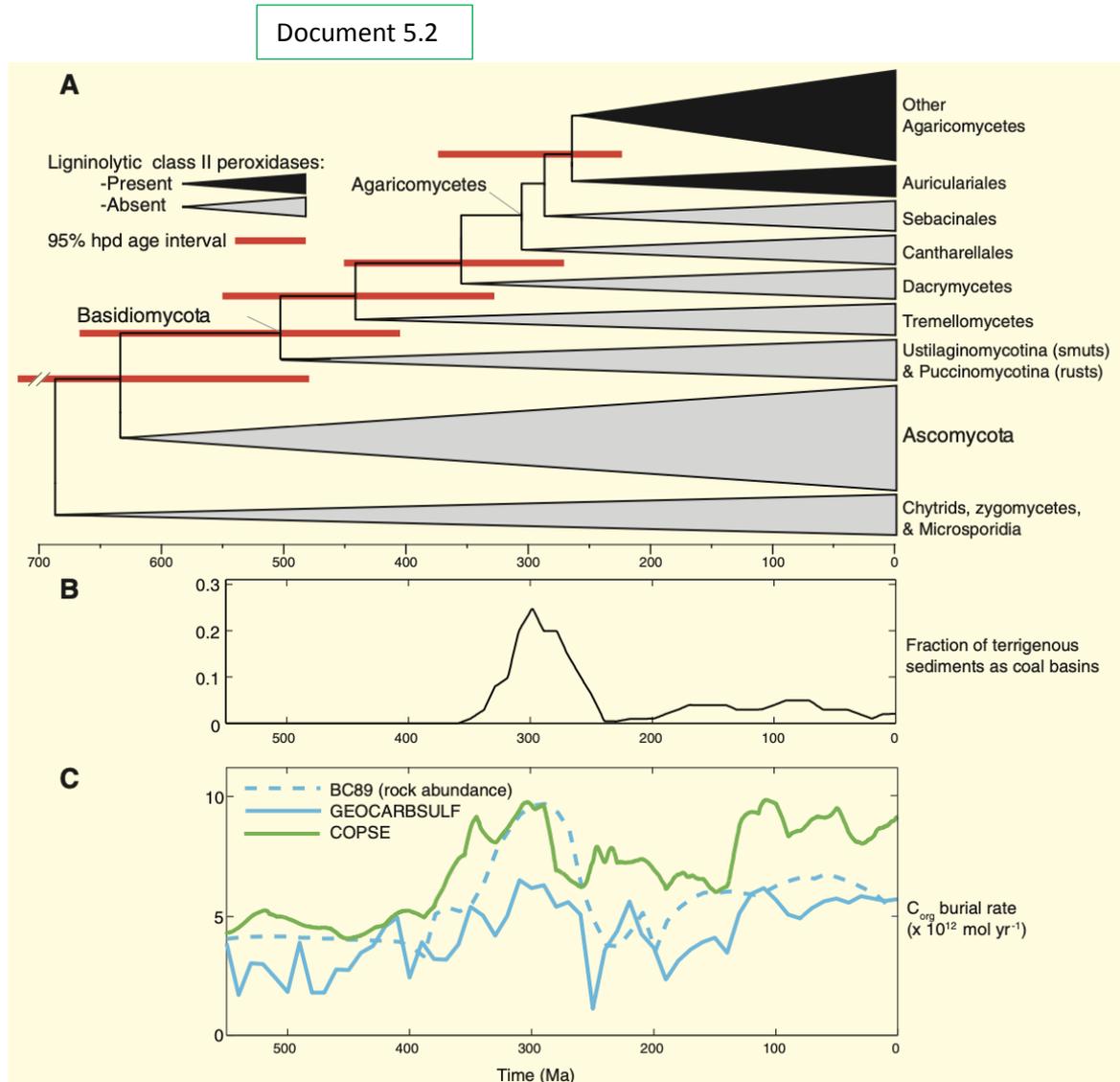


Document 5.1.b

Les différents constituants de la lignine sont séparés selon leur masse avant et après traitement par un filtrat de *Phanerochaete Chrysosporium*. Les quantités sont évaluées par mesure de l'absorbance à 280 nm (caractéristiques des phénols).

## 5.2 - Phylogénie des champignons des pourritures blanches et brunes

La phylogénie est mise en parallèle de l'estimation de l'efficacité de l'enfouissement du carbone au cours des temps géologiques.



Document 5.2 : Fungal evolution, abundance of coal basin sediments over the Phanerozoic, and model predictions for the rate of  $C_{org}$  burial.

A - Summary of multiple phylogenomic analyses with overlapping sampling. Black and gray triangles indicate clades with or without homologous ligninolytic class II peroxidases respectively. B - The majority of the coal reserves were deposited during the Carboniferous and Permian periods. Coal basin sediments have been found throughout the Mesozoic and the Cenozoic, right up to the present day, although the abundances are substantially lower than during the Permo-Carboniferous. C - Analyses using the rock abundance model (BC89, dashed blue line), isotope mass balance (GEOCARBSULF, solid blue line) and forwards modelling (COPSE, green line) yield similar predictions of  $C_{org}$  burial rates.

NB :

- 95% hpd age interval = intervalle d'âge statistiquement plausible.
- BC89, GEOCARBSULF et COPSE sont 3 modélisations indépendantes, bâties sur des observations différentes et prédisant les taux d'enfouissement du carbone organique au cours des temps géologiques.

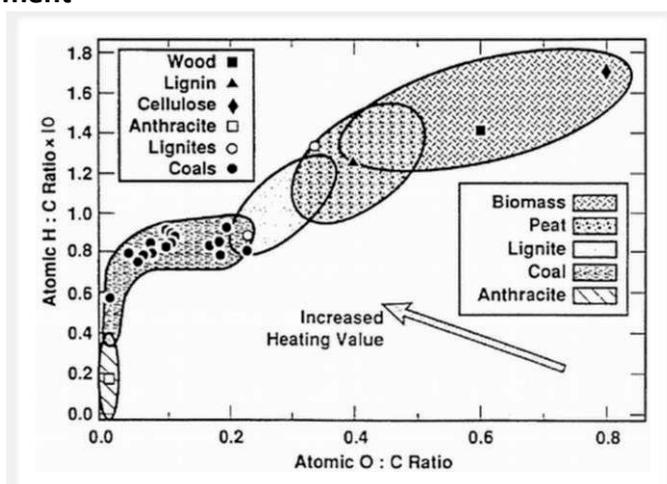
## Document 6 : Diagramme de van Krevelen

d'après Trif-Tordai G. et Ionel I. *Alternative Fuel*, 2011 ; Onishchenko Y. et al., *Petroleum Science and Technology*, 2019

Le diagramme de van Krevelen propose une classification de la matière organique contenue dans les sédiments : les rapports élémentaires H/C et O/C dépendent de la source de la matière organique et des transformations chimiques durant l'enfouissement. La première version du diagramme est publiée en 1957 ; deux versions modifiées de ce diagramme sont fournies ici.

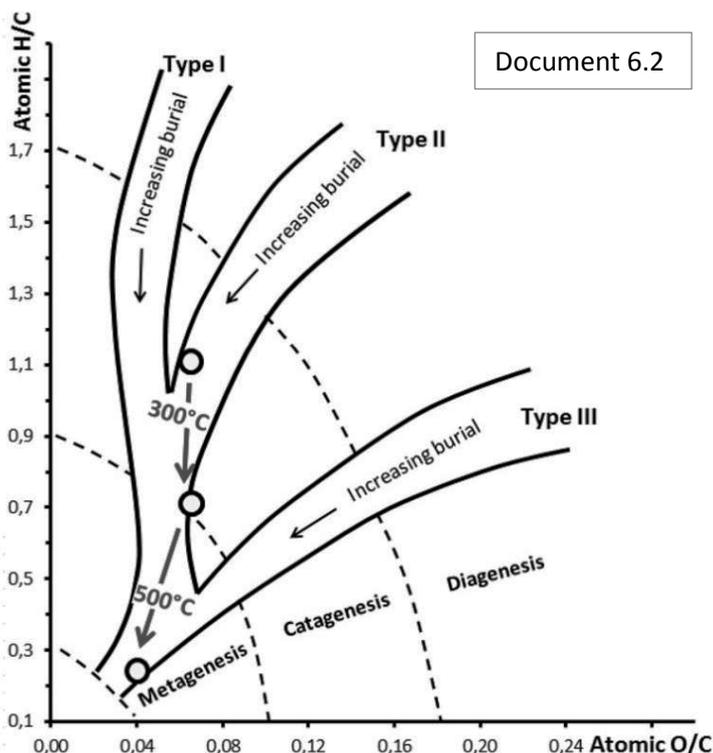
### 6.1 - Diagramme de van Krevelen montrant l'évolution de la matière organique terrestre au cours de l'enfouissement

Document 6.1



### 6.2 - Diagramme de van Krevelen montrant l'évolution de la matière organique au cours de l'enfouissement, selon son origine

Document 6.2



- Type I – hydrogen rich are formed from deposited algae the in the deep lakes. It trends to generate waxy crude oil.
- Type II –are formed from phyto- and zootoplankton in marine environments. Mostly it generated both oil and gas that had been buried in depth.
- Type III - are formed from terrestrial plant that had been decomposed by fungi and bacteria. Most of them became coal and coaly shale.