

SVT, EPREUVE SUR SUPPORT DE DOCUMENTS

Partie biologie

Durée indicative : 1 h 45

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 les 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 le vérifiera et, éventuellement, remplacera le sujet.

Ce sujet comporte 10 pages numérotées de 11 à 20 et une annexe au 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 prises.

Quelques aspects de la lactation

Répondre aux questions posées en construisant méthodiquement l'argumentation sur l'analyse des documents proposés et sur les connaissances, en adéquations avec les **consignes explicites** propres à chaque question. Les réponses seront **précises, concises et structurées**.

Le sujet comporte 3 thèmes indépendants. Il est conseillé de traiter les questions dans l'ordre du sujet. Les numéros des questions et des documents étudiés seront clairement indiqués. Aucune introduction, aucune conclusion n'est demandée.

Références :

Thème 1 :

Aupperlee and Jasman (2007). *Endocrinology* 148(5):2290–2300

Caja et al. (2020). *J. Dairy Sci.* 103:12033–12044

Colleluori et al. (2021). *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 22:241–255.

Davis et al. (2015). *PNAS* 112(18) 5827–5832

Dee Unglaub Silverthorn. *Human Physiology* (8ème édition)

Haaksmas et al. (2011). *Biology of Reproduction* 85, 13–21

Nickerson et al. (1982). *Cell Tissue Res* 223:421–430

Thème 2 :

Wolf et al. (2015). *The Journal of Nutrition*.

Xie et al. (2017). *Agric. Food Chem*

Zeng et al. (2019). *J. Dairy Sci.* 102:6726–6737

Zeng et al. (2021). *Animals* 11(1522)

Thème 3 :

Bouchon et al. (2019) *Boletín técnico: Generación de información y monitoreo del Fenómeno El Niño, Instituto Geofísico del Perú*, 6 (8), 5-9.

Castoe et al. (2011). *Genome Biology* 12:406

Reich and Arnould (2007). *Biol. Lett.* (2007) 3, 546–549

Foot et al. (2015) *Nature Genetics*

Oftedal et al. (1987) *Physiol. Zool.* 60(5):560–575.

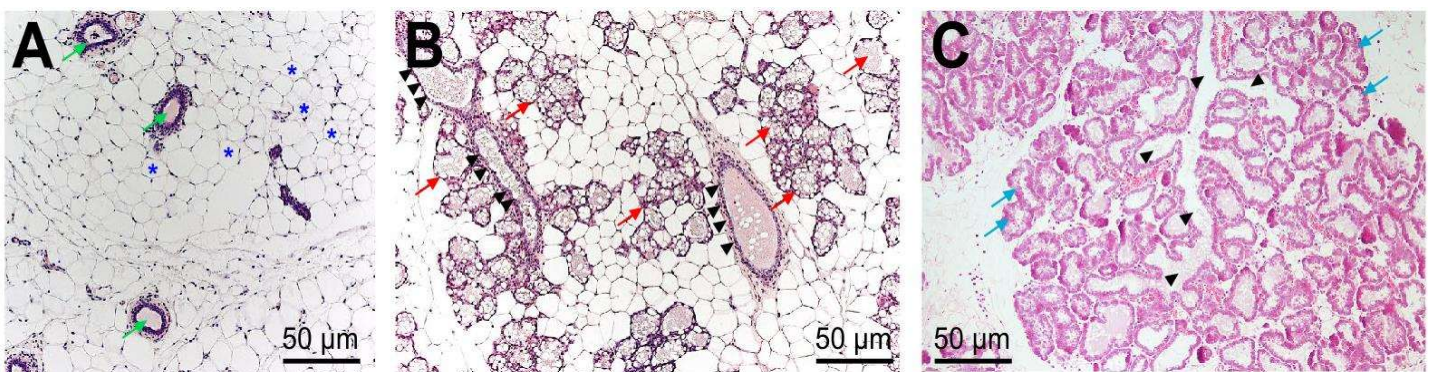
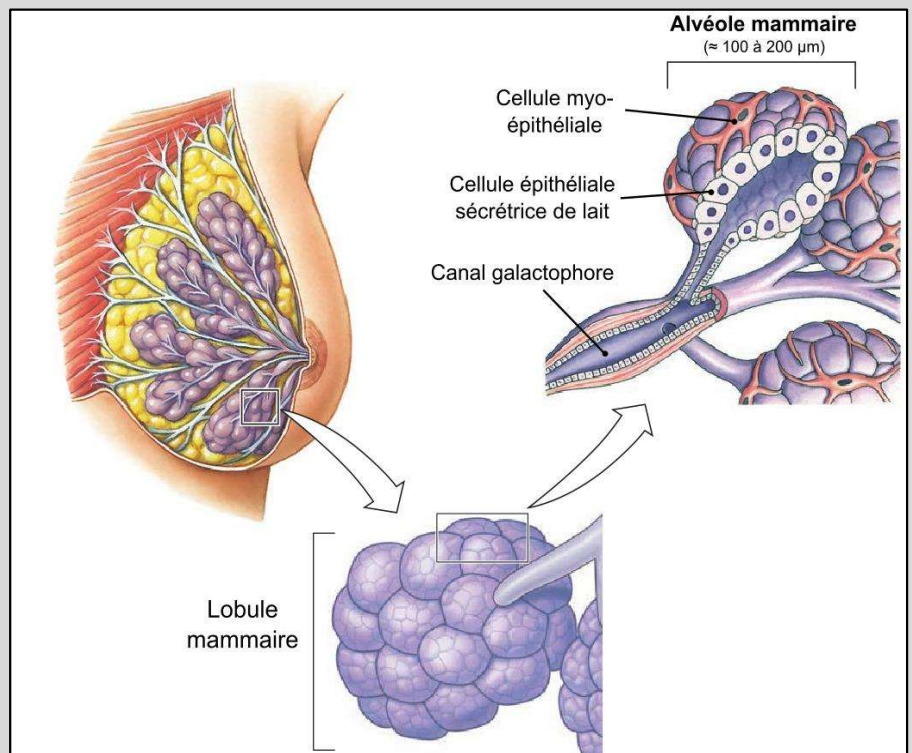
Trillmich et al. (1991), *Pinnipeds and El Niño*

Thème 1 : Contrôle hormonal de la lactation

Ces informations importantes sont à prendre en compte pour répondre aux questions. Elles ne sont pas à étudier pour elles-mêmes.

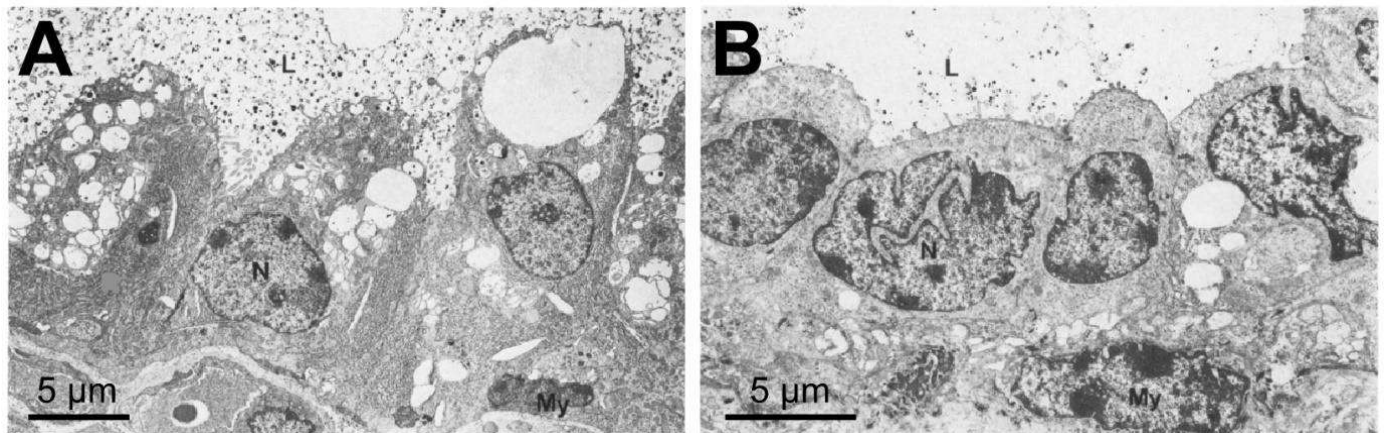
Les glandes mammaires sont constituées de nombreuses alvéoles mammaires regroupées en lobules. Chaque alvéole est constituée de cellules épithéliales sécrétrices de lait, entourées de cellules myoépithéliales (cellules musculaires lisses). Une alvéole débouche sur un canal galactophore.

Hormis l'eau, les constituants principaux du lait sont des protéines, des glucides et des lipides.



Document 1 : Glandes mammaires de souris femelles observées en microscopie optique (coloration hématoxyline/éosine). A : souris vierge (flèches vertes = vaisseaux sanguins, bleues = adipocytes). B : souris gestante de 18 jours (flèches rouges = alvéoles en cours de formation). C : souris allaitante 14 jours après parturition (flèches bleues = alvéoles formées). Flèches noires = canaux galactophores

Question 1 – À partir du document 1, caractériser les grandes lignes du développement des alvéoles mammaires dans le tissu mammaire lors de la lactation. Indiquer le tissu remplacé au cours de ce développement.



Document 2 : Électronographies de souris allaitante (A) ou ayant arrêté d'allaiter depuis plusieurs jours (B). L = lumière de l'alvéole, N = noyau de cellule épithéliale, My = noyau de cellule myoépithéliale.

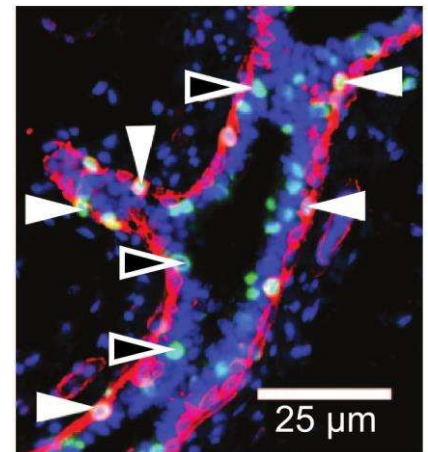
Question 2a – À partir d'une légende judicieusement choisie du document 2 reproduit en annexe, montrer que les cellules épithéliales ont une activité sécrétrice lors de la lactation.

Question 2b – Sachant que le cytosol en A est plus dense qu'en B, proposer des organites responsables de la synthèse et de la sécrétion des constituants organiques du lait.

Document 3 : Glande mammaire de souris après 3 jours de traitement hormonal aux œstrogènes + progestérone. Quelques heures avant leur prélèvement, les cellules sont mises en présence de BrdU, un analogue de la thymine.

Les noyaux cellulaires sont ensuite marqués au DAPI (bleu foncé), les cellules myoépithéliales sont marquées par un anticorps anti-actine (rouge), et les cellules ayant incorporé le BrdU fluorescent en vert. Les cellules sont observées en microscopie à fluorescence.

Les pointes de flèches (blanches ou noires) indiquent des cellules doublement marquées (elles présentent une fluorescence dans 2 longueurs d'onde différentes). Sans traitement aux hormones, cette double fluorescence est absente.



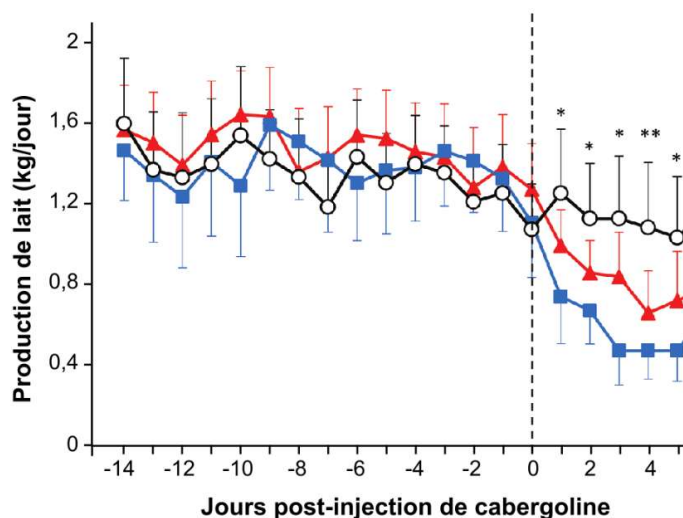
Question 3a – Justifier l'intérêt du BrdU dans le cadre de ce protocole.

Question 3b – Indiquer à quel type cellulaire chaque pointe de flèche (blanche ou noire) correspond.

Question 3c – Conclure sur l'effet des œstrogènes et de la progestérone sur la prolifération des cellules alvéolaires.

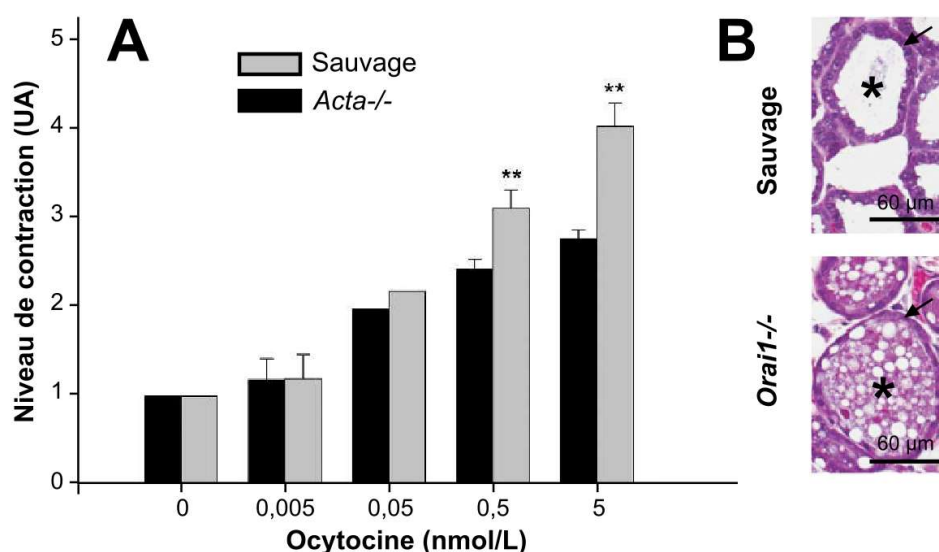
Document 4 : Production de lait par 10 brebis avant et après injection de cabergoline, un inhibiteur de la voie de réponse de l'hormone prolactine. Courbe noire = brebis non traitées ; rouge = 1,12 mg de cabergoline ; bleue = 0,56 mg de cabergoline.

* et ** = résultats statistiquement différents entre les 3 conditions.



Question 4a – À partir du document 4, déterminer le rôle de la prolactine sur la production de lait. Indiquer ce qui peut paraître étonnant concernant l'effet de la cabergoline.

Question 4b – Proposer, en justifiant, un type cellulaire de la glande mammaire susceptible de répondre à cette hormone.



Document 5 : (A) Contraction des cellules myoépithéliales en fonction de la dose d'ocytocine reçue, pour des souris sauvages et mutantes pour l'actine (*Acta*^{-/-}). ** = résultats statistiquement différents.

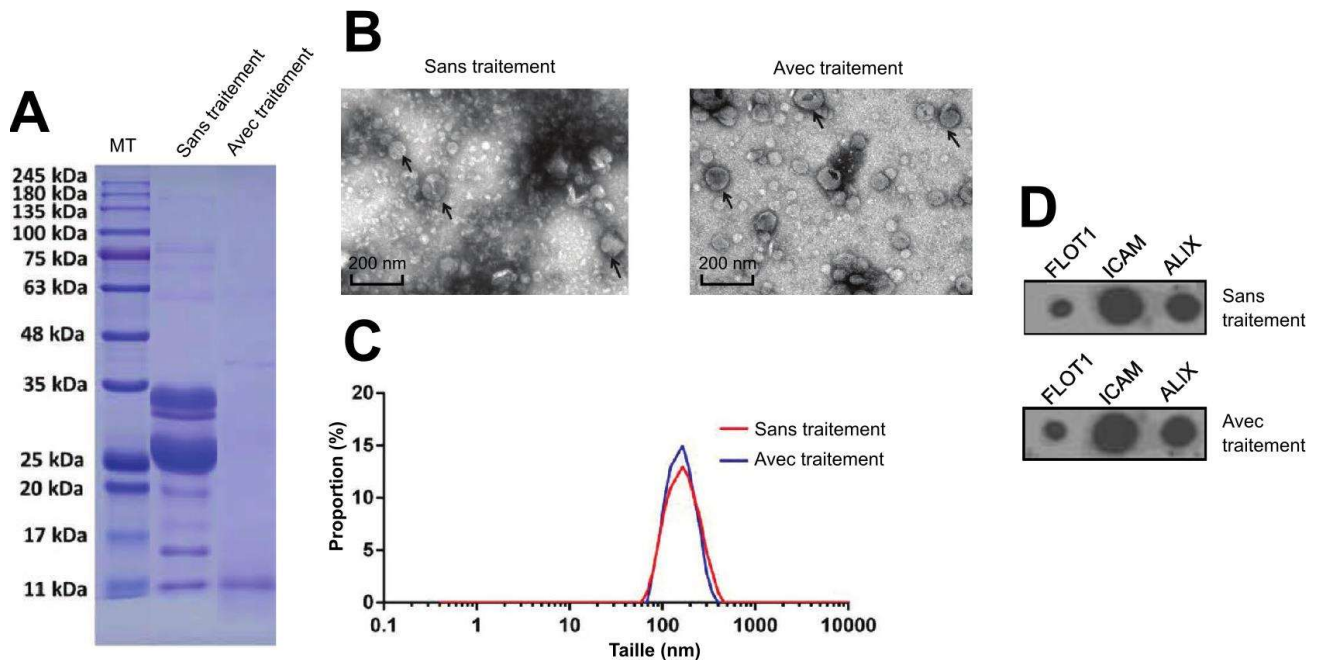
(B) Histologie des glandes mammaires de souris sauvages (haut) ou mutantes pour un canal calcique des cellules myoépithéliales (bas, *Orat1*^{-/-}). Les flèches indiquent les cellules épithéliales sécrétrices et les astérisques la lumière des alvéoles.

Question 5a – En analysant l'ensemble du document 5, déterminer l'effet de l'hormone ocytocine sur la sortie du lait de l'alvéole mammaire.

Question 5b – Sous forme d'une frise du temps, à orienter verticalement, résumer les grandes étapes entre le développement du tissu mammaire pendant la gestation et la sortie du lait après la parturition (ou mise-bas). Indiquer les hormones impliquées dans ce processus. On supposera que le lait est produit seulement après la parturition.

Thème 2 : Les exosomes, constituants du lait

Les exosomes correspondent à des vésicules extracellulaires retrouvées dans le lait, contenant divers composants.



Document 6 : On réalise le traitement *in vitro* suivant, mimant les premières étapes de la digestion : 3 mL de lait sont placés dans de la salive (pH = 6,8) pendant 5 minutes, puis dans du suc gastrique (pH = 2) pendant 60 minutes, puis dans du liquide pancréatique (pH = 7) pendant 60 minutes.

(A) Coloration au bleu de Coomassie (colorant des protéines) d'un gel d'électrophorèse de protéines de lait réalisé en conditions dénaturantes, sans ou avec traitement du lait. MT = marqueur de taille, kDa = kiloDalton.

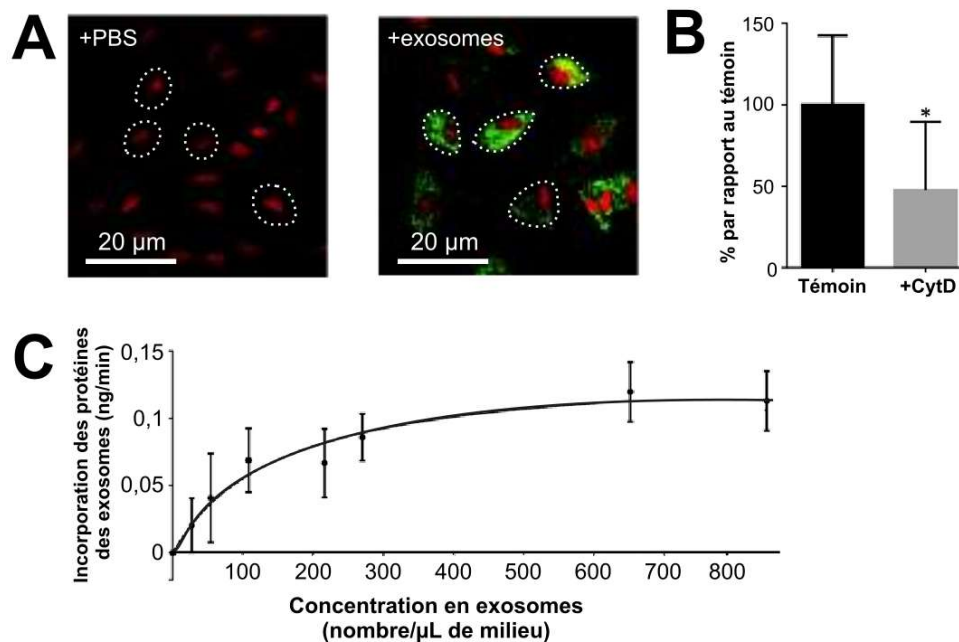
(B) Visualisation en microscopie électronique de constituants du lait particuliers, les exosomes (vésicules extracellulaires), sans ou avec traitement du lait. Les flèches indiquent les exosomes.

(C) Comparaison des tailles des exosomes sans ou avec traitement.

(D) Western blot révélant 3 protéines contenues dans les exosomes, sans ou avec traitement du lait.

Question 6a – À partir de l'analyse du document 6, déterminer le devenir des protéines du lait (libres ou au sein des exosomes) lors de la digestion.

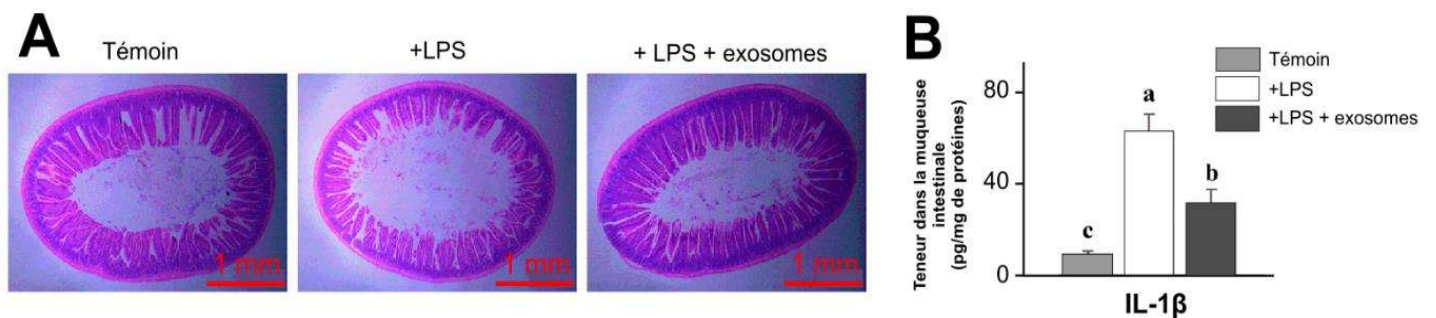
Question 6b – Proposer un rôle pour les exosomes.



Document 7 : Après traitement selon le protocole précédent, le lait est mis en présence de cellules épithéliales intestinales en culture. (A) : Visualisation en microscopie à fluorescence des noyaux (en rouge) et une protéine des exosomes (en vert). Quelques membranes plasmiques sont indiquées en pointillés. (B) : Nombre d'exosomes internalisés (en % par rapport au témoin) après ajout de cytochalasine D (CytD), un inhibiteur de l'endocytose. * = résultats statistiquement différents.

(C) : Vitesse d'incorporation des exosomes en fonction de leur concentration dans le milieu.

Question 7 – À partir d'une analyse du document 7, montrer que les exosomes sont endocytés après liaison à un récepteur membranaire des cellules intestinales cultivées *in vitro* et qu'une simple fusion avec la membrane plasmique peut être exclue.



Document 8 : On nourrit des souris avec une nourriture standard (témoin) ou avec une nourriture enrichie en LPS (+LPS) ou LPS et exosomes (+LPS + exosomes). Le LPS (lipopolysaccharide) est un constituant de la membrane externe des bactéries Gram(-) telles que *Escherichia coli*. (A) Coupes d'intestins de souris. (B) Mesure du taux d'IL-1 β dans la muqueuse intestinale des souris. Des lettres différentes correspondent à des résultats statistiquement différents.

Note : IL-1 β est une molécule du système immunitaire produite en cas d'inflammation.

Question 8 – À partir de l'analyse du document 8, déterminer la fonction des exosomes dans l'inflammation.

Document 9 :

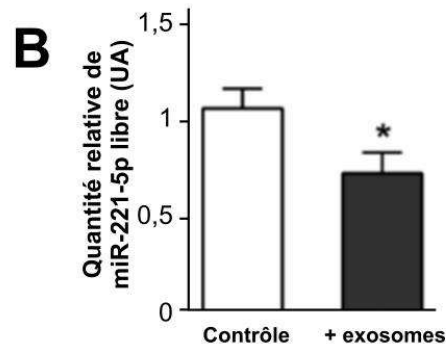
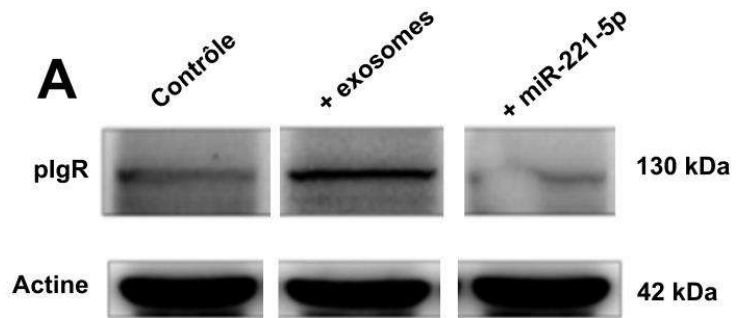
A : On met des cellules épithéliales d'intestin de souris en culture dans différentes conditions, puis on réalise un Western blot utilisant des anticorps ciblant plgR ou l'actine.

Contrôle = cellules non traitées ;

+ exosomes = cellules mises en présence d'exosomes ; + miR-221-5p = cellules transformées avec un ARN de petite taille.

B : Mesure de la quantité relative de miR-221-5p libre dans le cytosol des cellules épithéliales en présence ou non d'exosomes.

Note : plgR est une protéine des cellules de la muqueuse intestinale qui permet de transférer des anticorps depuis le milieu intérieur vers la lumière de l'intestin.



Question 9a – À partir de l'analyse du document 9A et des connaissances utiles sur les petits ARN, réaliser un schéma explicitant la fonction et le mode d'action de miR-221-5p dans les cellules intestinales.

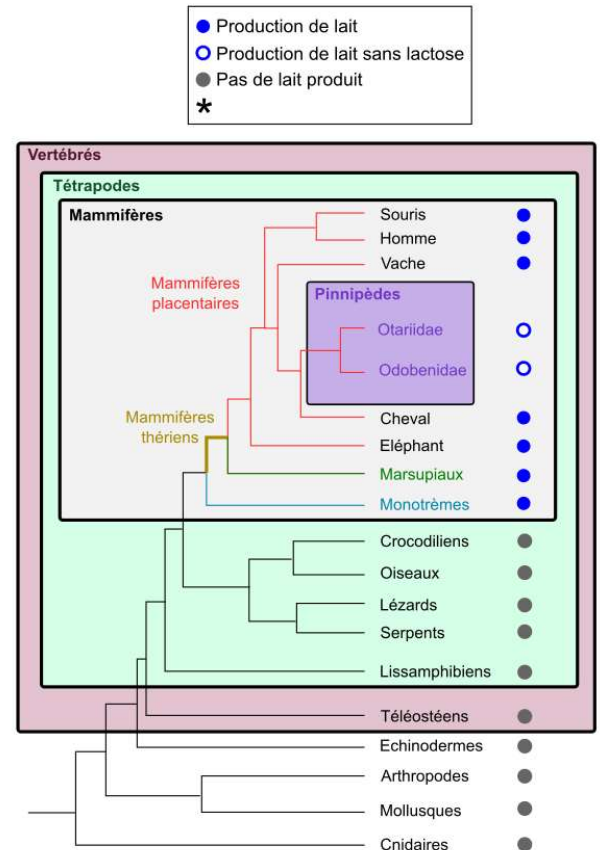
Question 9b – Sachant que les exosomes contiennent également de petits ARN circulaires et simple brin, schématiser un mécanisme moléculaire expliquant la variation de miR-221-5p libre observée dans le document 9B.

Question 9c – En faisant le lien avec les réponses à la question 8, rassembler toutes les données disponibles pour proposer un mode d'action des exosomes dans la défense de l'organisme contre un pathogène.

Thème 3 : Le lait des Pinnipèdes

Document 10 : Arbre phylogénétique simplifié des Métazoaires.

Question 10a – Positionner sur l'arbre des Métazoaires reproduit en annexe l'innovation correspondant à la production de lait. Justifier qu'elle constitue une synapomorphie d'un groupe monophylétique dont on précisera le nom.



La protéine α -lactalbumine est une protéine du lait appartenant à un complexe enzymatique appelé « lactose synthase » qui synthétise le lactose du lait dans le tissu mammaire. L'expression de la α -lactalbumine est activée par la prolactine, une hormone protéique, au cours de la lactation.

Question 10b – Proposer un scénario évolutif expliquant la présence de lactose dans le lait de l'essentiel des Mammifères et son absence chez les Otariidae et Odobenidae.

Document 11 : Extrait de la séquence d'un intron du gène de l' α -lactalbumine chez divers Mammifères.

Vache CTTTTCATTATCAGGTTGGCCCATAAAC
 Cheval CTTTTCATTATCAGGTTGGCCCATAAAC
 Otariidae +
 Odobenidae CTTTTCATTATCAGGTTGGCCCATAAAC
 Phocidae CTTTTCATTATCAGGTTGGCCCATAAAC

Question 11a – Sachant que les Phocidae ("phoques") sont des Pinnipèdes, les positionner dans l'arbre de l'annexe en utilisant le document 11 (aucune justification n'est attendue).

Question 11b – Repérer sur l'annexe par une étoile l'événement évolutif d'intérêt mis en évidence par le document 11. Légender et nommer cet événement.

Question 11c – Proposer une explication moléculaire expliquant l'absence de lactose du lait des Otariidae et Odobenidae.

Question 11d – Proposer un protocole de biologie moléculaire permettant de valider cette proposition.

Le lait des femelles Otariidae est relativement pauvre en glucides (en lactose en particulier). À l'inverse, il est plus riche en lipides qui proviennent de l'alimentation des mères allaitantes (poissons essentiellement). On s'intéresse ici à l'impact de paramètres climatiques sur la survie des jeunes (appelés « chiots ») allaités d'une population d'otaries de l'île de San Nicolas, au large de la Californie (Pacifique oriental).

Document 12-1 :

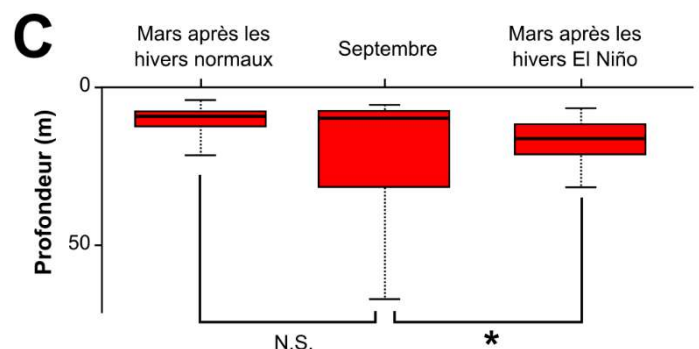
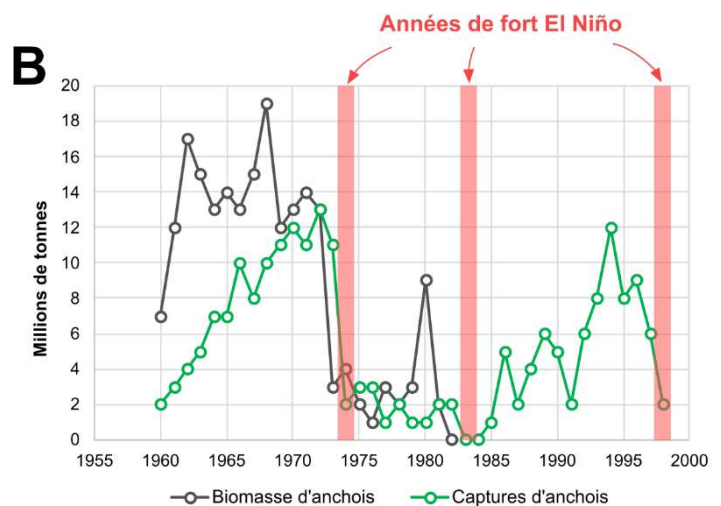
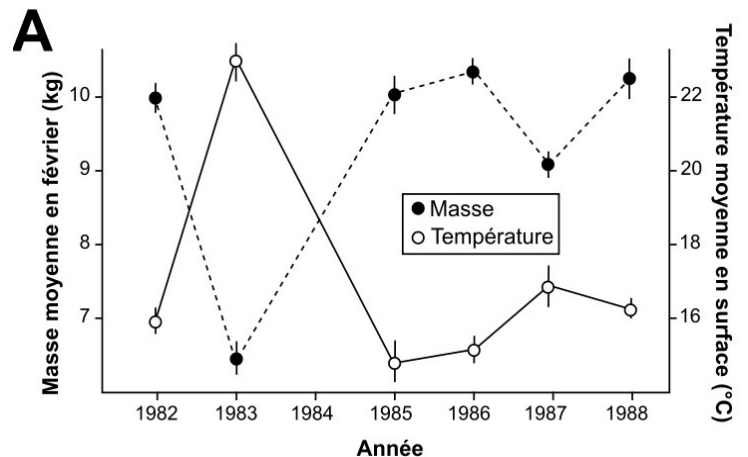
A : Masse moyenne des chiots en février et températures de surface des eaux du Pacifique

B : Captures d'anchois au large du Pérou, dans le Pacifique oriental. Les années de « fort El Niño » sont indiquées. Les anchois se nourrissent de plancton plus abondant dans les eaux froides riches en nutriments.

C : Profondeur des anchois, proies principales des otaries ; on donne les résultats en septembre et mars d'années normales sans El Niño ou avec El Niño.

* = résultats statistiquement différents (N.S. = différence non significative).

D : Quelques éléments sur le phénomène climatique El Niño.



D

El Niño désigne un phénomène climatique qui est caractérisé par des températures anormalement élevées de l'eau dans l'Est du Pacifique aux mois de décembre à mars. Son apparition empêche la remontée des courants d'eaux froides riches en nutriments (upwellings) le long des côtes.

Tableau 12-2 : Croissance, apports en lait et apport énergétiques chez des chiots d'otaries de Californie allaités avant (1982) et après (1984) un phénomène El Niño.

* : résultats statistiquement différents (N.S. = différence non significative).

Paramètre mesuré	1982		1984		Résultat du test statistique de comparaison 1982 vs 1984
	Mâles (n=7)	Femelles (n=7)	Mâles (n=4)	Femelles (n=4)	
Poids initial (kg)	9,09	7,59	8,75	7,84	NS
Gain quotidien (g)	144,1	120	107,5	95	*
Teneur en eau du corps (%)	70,7	68,1	74	71,1	*
Lait ingéré (g/jour)	831	641	683	596	*
Apports caloriques (kcal/jour)	2834	2187	2328	2032	*

Question 12 – Analyser conjointement l'ensemble des documents 12-1 et le tableau 12-2 pour aboutir à un lien entre le phénomène climatique El Niño, l'abondance et la profondeur des anchois, l'alimentation des otaries, l'allaitement des jeunes et la température des eaux de surface.

La réponse sera présentée sous forme graphique (par exemple sous forme de carte mentale, carte conceptuelle, séquence de schémas...). Les relations de cause à effet ainsi que les documents utilisés pour l'argumentation seront clairement indiqués.

FIN DU SUJET