

5.4 Épreuve de travaux pratiques de contre-option du secteur A : Sujet et commentaires

L'épreuve de contre-option de travaux pratiques vise à évaluer des compétences manipulatoires simples, telles qu'accessibles avec le matériel disponible dans le secondaire mais aussi à évaluer la compréhension de techniques plus complexes dont les données sont très souvent proposées aux élèves. Il s'agit aussi de tester des compétences organisationnelles pour réussir à couvrir l'ensemble des questions posées. Enfin, il s'agit de vérifier que les candidats connaissent les règles d'hygiène et de sécurité relatives aux manipulations expérimentales qu'ils auront à inculquer à leurs futurs élèves.

Le sujet proposé cette année portait sur les aspects histo-fonctionnels du système nerveux des vertébrés, et était organisé en quatre parties indépendantes.

Dans une première partie, axée sur la mise en évidence du système nerveux, des organes aux cellules qui le composent, les candidats devaient mettre en évidence les éléments céphaliques du système nerveux d'un poisson à tête plate par une dissection. Ils devaient réaliser à partir de cette dissection un frottis de cortex cérébral et une préparation de nerf dilacéré dont l'observation microscopique conduisait à un dessin légendé. Enfin les candidats devaient décrire les types cellulaires composant le tissu nerveux et leurs caractéristiques fonctionnelles. La qualité des dissections, des préparations de même que l'utilisation du microscope n'étaient pas toujours optimales. Pour bon nombre des candidats, les dessins n'étaient pas représentatifs des observations possibles. La connaissance des types cellulaires et leurs caractéristiques étaient trop souvent très succinctes.

La seconde partie consistait en l'étude de l'excitabilité du tissu nerveux, depuis sa mise en évidence jusqu'aux mécanismes moléculaires à l'aide de différentes techniques expérimentales. La plupart des candidats ont été en mesure de tracer une courbe courant-voltage à partir des données fournies dans l'énoncé. En revanche, l'écriture de l'équation de Nernst et le calcul des potentiels d'équilibre ont posé beaucoup de problèmes à de nombreux candidats, et ont de ce fait, été discriminants. Il en était de même pour la définition de l'équation reliant le courant à la conductance et au gradient électrochimique, ainsi que pour le calcul de la conductance unitaire du canal. Dans cette partie, les candidats devaient également interpréter des données expérimentales concernant la maturation et le trafic des canaux ioniques à la membrane plasmique. La plupart des candidats ont été en mesure de désigner le réticulum endoplasmique rugueux comme compartiment auquel sont adressées en premier lieu les protéines possédant une séquence signal. En revanche, les principales étapes moléculaires se déroulant dans le cytoplasme et permettant l'adressage de ces protéines vers la membrane du réticulum endoplasmique rugueux ont été décrites de manière superficielle par un grand nombre de candidats. Il faut également noter que beaucoup de candidats se sont limités à une description des western-blot, sans toutefois en proposer une interprétation, ce qui, là encore, s'est avéré discriminant.

La troisième partie portait sur la communication chimique au sein du système nerveux. Le sujet questionnait les candidats sur un protocole de détection par immunohistochimie de la choline acétyltransférase appliqué sur des coupes coronales de moelle épinière de souris, coupes dont disposaient les candidats. Le sujet comportait les fiches techniques des différents réactifs utilisés, une liste de matériel et un protocole détaillé. Les candidats ont été amenés à décrire les étapes clés du protocole d'immunohistochimie, ainsi que le rôle des réactifs utilisés. Certains candidats n'ont pas été en mesure de décrire le principe du protocole. Ils devaient par

ailleurs indiquer les calculs permettant d'obtenir les solutions à utiliser de même que le matériel utilisé pour les obtenir et les équipements de protection individuelle nécessaire au regard des indications délivrées dans les fiches techniques. Peu de candidats sont parvenus à réaliser l'ensemble des calculs et trop peu de candidats ont tenu compte de façon pertinente des indications présentes dans les fiches techniques. Les candidats devaient par ailleurs préciser les contrôles qui devaient avoir été faits pour s'assurer de la spécificité de l'immunodétection réalisée et observer au microscope une coupe de moelle épinière ayant subi le protocole pour en réaliser un dessin légendé. Ces éléments ont été réalisés de façon approximative par certains candidats. Enfin les candidats devaient préciser ce qu'est un motoneurone (identifié dans la corne ventrale de la moelle épinière par l'immunodétection de la choline acétyltransférase) et le messager chimique libéré puis décrire les acteurs moléculaires intervenant depuis la réception du messager chimique au sein de la jonction neuro-musculaire jusqu'à l'effet global observé sur la cellule cible. Ces éléments ont été abordés par de nombreux candidats, mais de manière parcellaire. Peu d'entre eux ont été en mesure de décrire précisément les différentes étapes impliquant les divers acteurs moléculaires.

Le sujet commenté se trouve sur les pages suivantes.

**AGRÉGATION DE SCIENCES DE LA VIE -
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

CONCOURS EXTERNE – EPREUVES D'ADMISSION – Session 2025

TRAVAUX PRATIQUES DE CONTRE OPTION DU SECTEUR A

Candidats des secteurs B et C

Durée totale : 2 heures

Aspects histo-fonctionnels du système nerveux des vertébrés

Les 3 parties sont indépendantes :

- Partie I : le système nerveux, des organes aux cellules qui le composent
Durée conseillée : 40 minutes — barème indicatif : 30 points sur 100
- Partie II : l'excitabilité du tissu nerveux, de sa mise en évidence aux mécanismes moléculaires impliqués
Durée conseillée : 30 minutes — barème indicatif : 25 points sur 100
- Partie III : la communication chimique au sein du système nerveux
Durée conseillée : 50 minutes — barème indicatif : 45 points sur 100

Les réponses aux questions figureront dans les cadres réservés à cet effet.

N'oubliez pas d'appeler les examinateurs lorsque cela est demandé.

Une lecture du sujet dans son intégralité est fortement conseillée afin de répartir au mieux son temps de travail entre les différentes parties et les différentes manipulations.

Partie I : le système nerveux, des organes aux cellules qui le composent

I.A. étude macroscopique

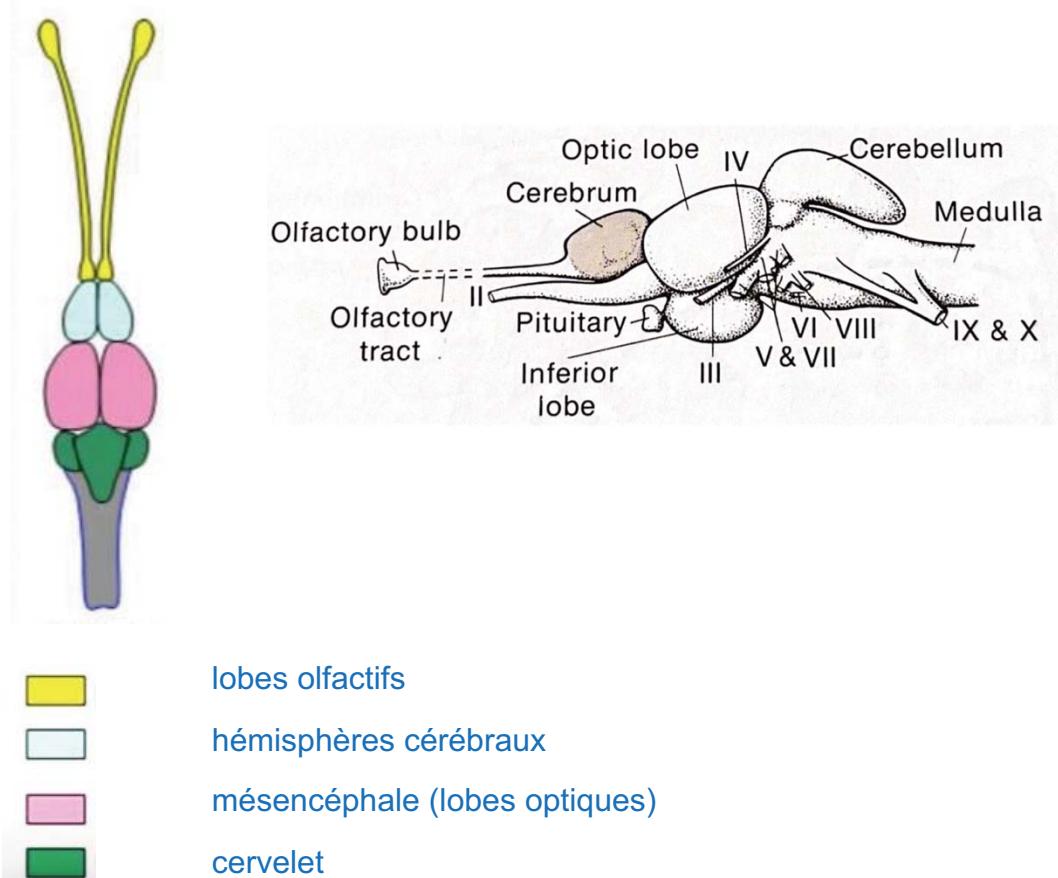
Vous disposez d'un poisson à tête plate afin de mettre en évidence les éléments de son système nerveux.

Quelques indications de dissection

- 1/placer la tête du poisson face ventrale sur le fond de la cuvette ; l'épingler (dans la bouche et en arrière de la tête)
- 2/découper la peau recouvrant les os du crâne
- 3/retirer les muscles recouvrant les os du crâne ==> le système nerveux central (encéphale et premiers segments de la moelle épinière) est visible par transparence
- 4/découper le dessus du crâne de l'arrière vers l'avant sur la droite et sur la gauche ; soulever l'os découpé ==> encéphale visible
- 5/enlever délicatement les muscles et les os recouvrant le nerf optique ==> lien anatomique entre les yeux et l'encéphale visible
- 6/découper délicatement les apophyses dorsales des premières vertèbres cervicales ==> premiers segments de la moelle épinière visibles

A l'issue de votre dissection :

- 1/présentez votre dissection à l'un des examinateurs de votre salle ;
- 2/faites en un dessin légendé le plus précis possible.



NOM :

Prénom :

Salle N°

I.B. étude microscopique

A partir de votre dissection, prélevez un échantillon de cortex cérébral et un échantillon de nerf. Réalisez un frottis de cortex cérébral (annexe 1) et une préparation de nerf dilacéré (annexe 2) ; observez vos préparations histologiques au microscope.

Pour chacune des préparations histologiques :

1/faîtes un dessin légendé ;

2/présentez à l'un des surveillants de votre salle la localisation du prélèvement, votre préparation au microscope et le dessin légendé correspondant.

Plusieurs grossissements et leurs dessins respectifs peuvent être utilisés

-frottis de cortex cérébral

*prélèvement réalisé en superficie des hémisphères cérébraux (région encéphalique correctement identifiée par le candidat devait être validée par un examinateur)

*les légendes à indiquer

-corps cellulaire de neurone (=soma)

-noyau

-nucléole

-corps de Nissl

-distinction dendrite/axone selon la présence (dendrites) ou l'absence (axone) de corps de Nissl dans l'émergence du prolongement à partir du soma

-noyau de cellules gliales

-préparation de nerf dilacéré

*prélèvement du nerf optique (ou d'un nerf rachidien lorsque la dissection le permettait)

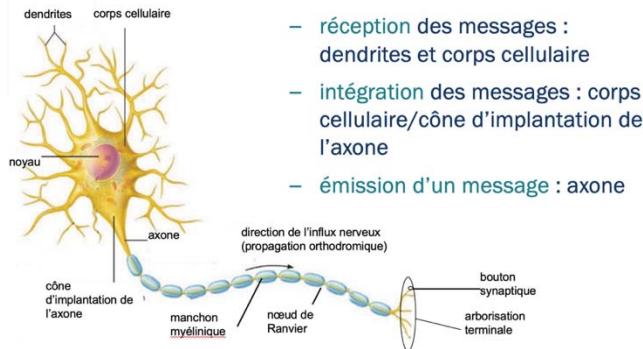
*les légendes à indiquer

-fibre nerveuse myélinisée

-nœud de Ranvier

Dans le cadre ci-dessous, répondez à la question suivante : quels sont les différents types cellulaires qui composent le tissu nerveux et leurs caractéristiques fonctionnelles ? Organisez votre réponse en tenant compte de la distinction qui est faite entre le système nerveux central et le système nerveux périphérique.

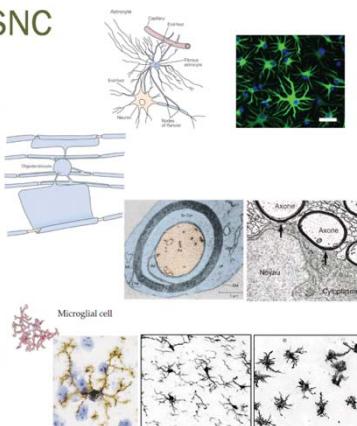
le neurone, une cellule polarisée



les cellules gliales du SNC

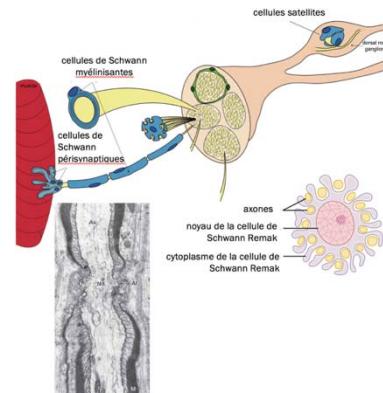
névroglye ou glie du grec ancien
glioios (glue ; Rudolf Virchow, 1856)

- astrocytes : régulent l'environnement et le fonctionnement des neurones
- oligodendrocytes : responsables de la myélinisation, un oligodendrocyte établit plusieurs manchons myéliniques
- microglie : propriétés communes avec les macrophages



les cellules gliales du SNP

- Schwann myélinisante
 - décrites par Ranvier, 1871
 - 1 cellule de Schwann fait 1 manchon myélinique
- Schwann non myélinisantes ou cellules de Schwann Remak
 - décrites par Remak, 1838
 - entourent les axones non myélinisés
- cellules satellites
 - entourent les corps cellulaires dans les ganglions
- cellules de Schwann périsinaptiques
 - ... réparation axones endommagés



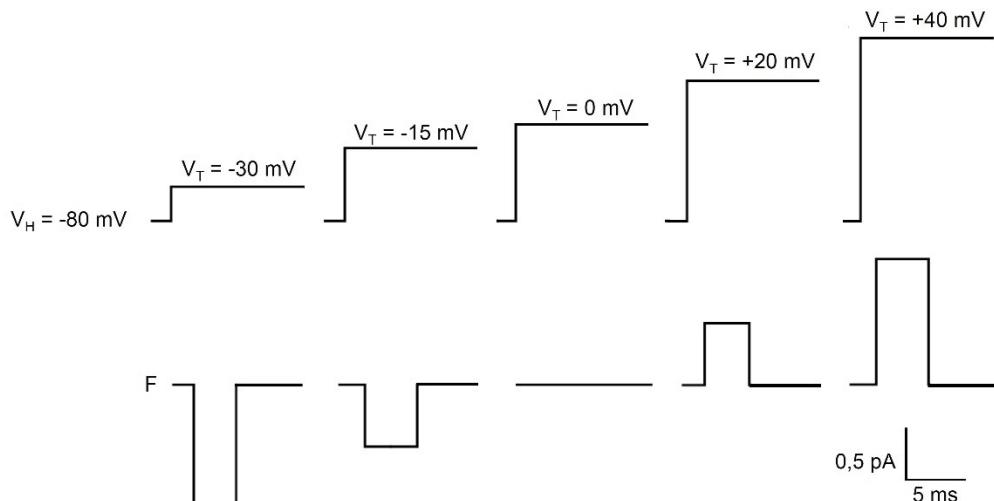
Partie II : l'excitabilité du tissu nerveux, de sa mise en évidence aux mécanismes moléculaires impliqués

II.A. Etude des propriétés électrophysiologiques d'un canal ionique à la l'aide de la technique du patch-clamp

On cherche à caractériser les propriétés électrophysiologiques des canaux chlorure exprimés à la membrane plasmique des neurones à l'aide de la configuration de patch-clamp en configuration « *inside-out* » (ou « détachée face interne vers le dehors »).

Pour cela, on a rempli la pipette de patch-clamp avec une solution contenant 140 mM NaCl et 14 mM KCl. La face interne du fragment de membrane est exposée avec une solution contenant 140 mM KCl et 14 mM NaCl.

Des sauts de potentiels à différentes valeurs (V_T) sont appliqués à partir de la valeur initiale (V_H) de -80 mV. Les courants obtenus aux différents V_T sont les suivants : -0,6 pA à -30 mV ; -0,3 pA à -15 mV ; 0 pA à 0 mV ; 0,4 pA à 20 mV et 0,8 pA à 40 mV. Le niveau « F » correspond aux périodes où le canal est fermé. Le potentiel du milieu extérieur est pris comme référence.



- 1) Donnez l'expression littérale de l'équation permettant de calculer le potentiel d'équilibre d'un ion. Nommez-la. Calculez le potentiel d'équilibre du potassium, du sodium et du chlorure. On utilisera pour le calcul $2,3 \times (RT/F) = 60 \text{ mV}$.

L'équation permettant de calculer le potentiel d'équilibre d'un ion est appelée l'équation de Nernst. Il est précisé dans l'énoncé d'utiliser pour le calcul du potentiel d'équilibre $2,3 \times (RT/F) = 60 \text{ mV}$. On attend donc que l'équation de Nernst soit exprimée avec un logarithme décimal, et non avec logarithme népérien.

On sait que $\ln(x) = \log(x) \times \ln(10) = \log(x) \times 2,3$.

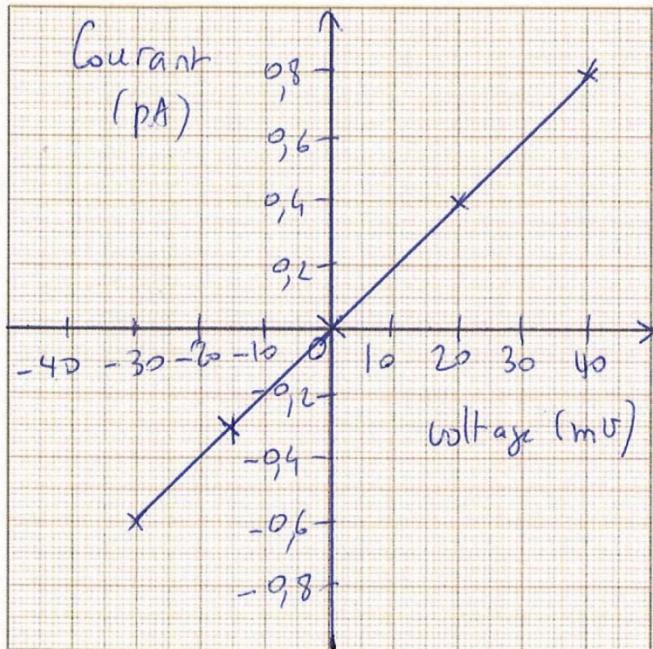
L'équation de Nernst est donc :

$$E_{ion} = 2,3 \frac{RT}{zF} \log \left(\frac{[ion]_{ext}}{[ion]_{int}} \right) V$$

Ainsi :

$E_{Cl^-} = 0 \text{ mV}$; $E_{K^+} = -60 \text{ mV}$; $E_{Na^+} = 60 \text{ mV}$

- 2) Tracez la courbe courant/ V_T correspondante.



- 3) Ecrivez l'équation reliant le courant à la conductance et au gradient électrochimique, et calculez la conductance du canal.

$$\text{courant} = \text{conductance} \times \text{gradient électrochimique}$$

$$\text{conductance} = -0.6 \times 10^{-12} / ((-30 - 0) \times 10^{-3}) = 20 \times 10^{-12} \text{ S} = 20 \text{ pS}$$

- 4) D'après les résultats expérimentaux, à la valeur $V_T = -15 \text{ mV}$, quel est le sens (sortant ou entrant) du courant et du flux des ions Cl^- correspondant ? Justifiez votre réponse.

Le courant est négatif donc entrant. Le flux des ions Cl^- est donc sortant.

II.B. Etude de la maturation et du trafic des canaux ioniques de la membrane plasmique

Dans cette partie, on s'intéresse plus particulièrement aux canaux potassiques voltage-dépendants Eag1 (ou Kv10.1) exprimés à la membrane plasmique de plusieurs types cellulaires.

- 1) Comme toutes les protéines transmembranaires localisées à la membrane plasmique, l'ARNm mature du canal potassique Kv10.1 comporte une séquence codant un peptide signal.
 - a) A quel compartiment cellulaire sont adressées en premier lieu les protéines possédant un peptide signal ?

Réticulum endoplasmique rugueux

- b) Décrivez les principales étapes moléculaires se déroulant dans le cytoplasme permettant l'adressage de ces protéines vers la membrane de ce compartiment cellulaire.
 1. Dès que la séquence signal émerge du ribosome, la particule de reconnaissance du signal (SRP) la reconnaît et s'y attache ; la traduction est suspendue.
 2. La SRP escorte le complexe jusqu'à la membrane du RE et s'attache à son récepteur présent sur la membrane du RER.
 3. La SRP est libérée de son récepteur.
 4. Le ribosome se fixe à un complexe membranaire de translocation (translocon) présent sur la membrane du RER.
- 2) Des lysats provenant de cellules CHO préalablement transfectées avec un plasmide encodant le canal Kv1.10 ont été soumis à un western-blot. Préalablement à cette expérience, une partie des lysats a subi un pré-traitement à l'EndoH ou à la PNGase F dont le mode d'action est présenté sur la figure 1. Les résultats de l'expérience de western-blot sont présentés sur la figure 2. Analysez et interprétez les résultats de la figure 2.

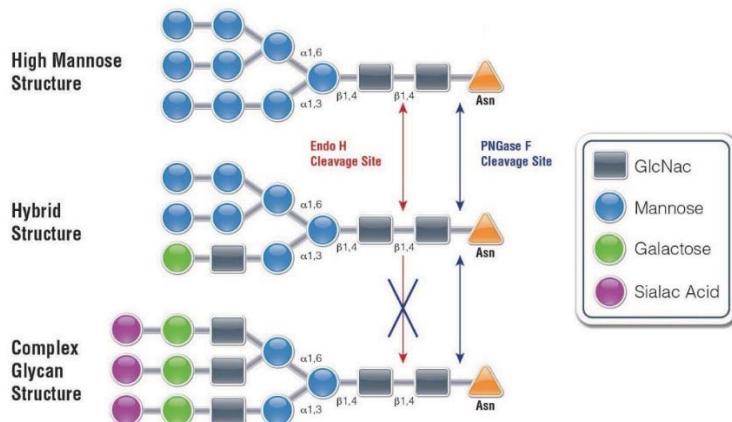


Figure 1. Sensibilité à l'endoglycosidase H (Endo H) et à la N-glycosidase F (PNGase F) des oligosaccharides liés aux glycoprotéines par une liaison N-glycosidique.

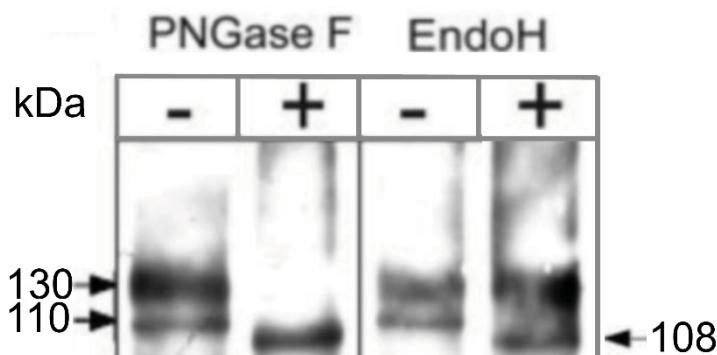


Figure 2. Analyse par western-blot des lysats des cellules CHO pré-traités (+) ou non (-) avec l'Endo H ou la PNGase F. D'après Napp *et al.* 2005.

Sans traitement par l'Endo H ou la PNGase F, le canal potassique Kv10.1 est présent dans les lysats sous deux poids moléculaires : l'une de 130 kDa et l'autre à 110 kDa.

Les protéines de 110 kDa sont sensibles à l'Endo H, et non celles de 130 kDa. D'après la Figure 2, l'Endo H clive des protéines qui possèdent des sucres qui sont rajoutés durant les étapes de la N-glycosylation qui se déroulent dans le réticulum endoplasmique puis dans l'appareil de Golgi. Les protéines de 110 kDa correspondent donc à des formes de protéines N-glycosylées qui transitent dans ces compartiments, et qui présentent d'abord des oligosaccharides riches en mannose, puis hybrides.

Les protéines de 130 kDa et 110 kDa sont sensibles à la PNGase F. D'après la Figure 2, la PNGase F clive des protéines qui possèdent des sucres qui sont rajoutés aux protéines durant les étapes de la N-glycosylation qui se déroulent dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Dans la mesure où les protéines de 130 kDa ne sont pas sensibles à l'Endo H, elles correspondent donc formes de protéines N-glycosylées retrouvées dans l'appareil de Golgi, et qui présentent des oligosaccharides complexes. De plus, la forme non glycosylée de la protéine a un poids moléculaire de 108 kDa.

3) Les canaux potassiques Kv1.10 possèdent 6 sites consensus pour la N-glycosylation. Leur séquence est du type NX(S/T), avec X pouvant être n'importe quel acide aminé sauf la proline. Des lysats provenant de cellules CHO préalablement transfectées avec un plasmide encodant un canal Kv1.10 muté ont été soumis à un western-blot. Préalablement à cette expérience, une partie des lysats a subi un pré-traitement PNGase F. Les résultats de l'expérience de western-blot sont présentés sur la figure 3. Analysez et interprétez les résultats de la figure 3.

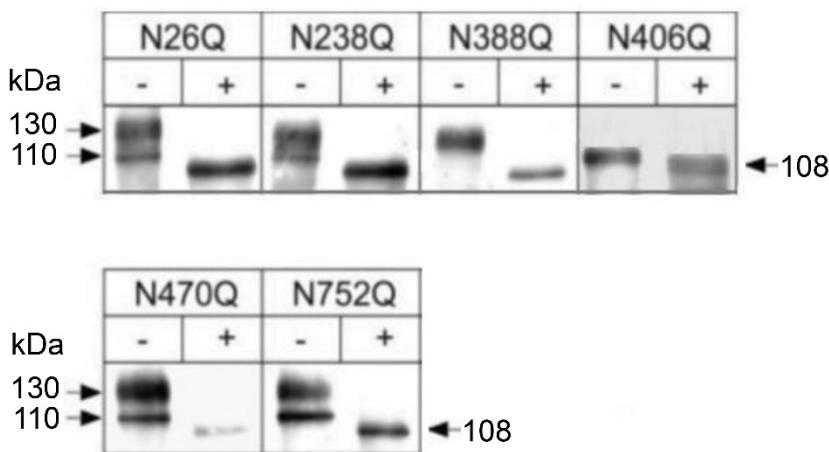


Figure 3. Analyse par western-blot des lysats des cellules CHO pré-traités (+) ou non (-) avec la PNGase F. D'après Napp et al. 2005.

Sans pré-traitement à la PNGase F, les mutants N26Q, N238Q, N470Q et N752Q se présentent sous les mêmes formes que celles observées pour la protéine sauvage (110 kDa et 130 kDa). Comme pour la protéine sauvage, ces formes sont N-glycosylées car elles sont sensibles au pré-traitement à la PGNase qui aboutit à la détection d'une forme non glycosylée de la protéine d'un poids moléculaire de 108 kDa. Ces données démontrent donc que la N-glycosylation ne s'effectue pas sur les asparagines 26, 238, 470 et 752.

Sans pré-traitement à la PNGase F, le mutant N388Q n'est présent que sous la forme de 130 kDa. La forme de 110 kDa n'est pas observée. Comme pour la protéine sauvage, la forme de 130 kDa est sensible au pré-traitement à la PGNase F qui aboutit à la détection d'une forme non glycosylée de la protéine d'un poids moléculaire de 108 kDa. Ce résultat démontre donc que les oligosaccharides riches en mannose et hybrides sont liés à l'asparagine 388.

Sans pré-traitement à la PNGase F, le mutant N406Q n'est présent que sous la forme de 110 kDa. La forme de 130 kDa n'est pas observée. Comme pour la protéine sauvage, la forme de 110 kDa est sensible au pré-traitement à la PGNase F qui aboutit à la détection d'une forme non glycosylée de la protéine d'un poids moléculaire de 108 kDa. Ce résultat démontre que les oligosaccharides complexes sont liés à l'asparagine 406.

NOM :

Prénom :

Salle N°

4) Des membranes plasmiques provenant de cellules CHO préalablement transfectées avec un plasmide encodant un canal Kv1.10 sauvage ou muté ont été soumis à un western-blot. Les résultats de l'expérience de western-blot sont présentés sur la figure 4. Analysez et interprétez les résultats de la figure 4.

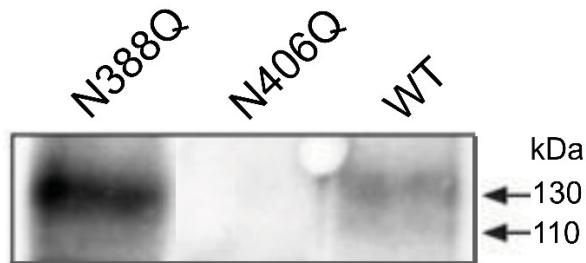


Figure 4. Analyse par western-blot de membranes plasmiques provenant de cellules CHO. Un léger signal à 110 kDa est détectable pour la forme sauvage (WT) du canal Kv1.10. D'après Napp *et al.* 2005.

Le mutant N388Q est exprimé à la membrane plasmique sous une forme de 130 kDa. La forme sauvage est essentiellement exprimée à la membrane plasmique sous une forme de 130 kDa. En revanche, le mutant N406Q n'est pas exprimé à la membrane plasmique.

De ce fait, les oligosaccharides liés à l'asparagine 388 ne sont pas indispensables pour l'expression à la membrane plasmique de Kv1.10. En revanche, ceux liés à l'asparagine 406 jouent un rôle important pour l'expression à la membrane plasmique de Kv1.10.

Partie III : la communication chimique au sein du système nerveux

Vous disposez de plusieurs coupes coronales de moelle épinière de souris adultes au niveau cervical ou lombaire qui ont été soumises à un protocole d'immunohistochimie sur coupes flottantes.

Pour la réalisation de ce protocole, l'expérimentateur disposait des réactifs et du matériel indiqués dans le tableau ci-dessous.

réactifs (fiches techniques sous le tableau)	matériel
eau déminéralisée	matériel de protection individuel (gants, lunette, blouse)
tampon phosphate salin (<i>BioLegend®</i> , <i>Phosphate Buffer Salin-PBS</i> , pH 7,4, 1M)	balance de précision (pesée maximum 220g ; pesée minimum 0,01g)
Triton X-100 (<i>Bio-Rad®</i>)	micropipettes P10000, P1000, P200, P100, P10 et P2
albumine de sérum bovin (<i>Sigma-Aldrich®</i> , <i>Bovin Serum Albumine-BSA</i>)	réfrigérateur
anticorps dirigé contre la choline acétyltransférase fait chez la chèvre (Chemicon®-Sigma-Aldrich®, Gt-ChAT)	agitateur de plaques multi-puits
anticorps dirigé contre le fragment constant des anticorps de chèvre couplé à une peroxydase (Vector Laboratories®, Horse Anti-Goat IgG Antibody (H+L), Peroxidase, 1mg/ml)	tubes de différents volumes
kit de substrats de la peroxydase (<i>NeoBiotech®</i> , Nickel Enhanced 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride Substrate kit)	pipettes plastiques jetables


www.sigmadralich.com

FICHE DE DONNÉES DE SÉCURITÉ

conformément au Règlement (CE) No. 1907/2006

RUBRIQUE 1: Identification de la substance/du mélange et de la société/l'entreprise

1.1 Identificateurs de produit

Nom du produit : Gt X ChAT Affinity Purified Polyclonal Antibody
Code Produit : AB144P
Code produit : 633470
Marque : Millipore

1.2 Utilisations identifiées pertinentes de la substance ou du mélange et utilisations déconseillées

Utilisations identifiées : Réactif pour le développement et la recherche

1.3 Renseignements concernant le fournisseur de la fiche de données de sécurité

Société : Merck Life Science S.A.S
80 Rue de Luzais
F-38297 SAINT QUENTIN FALLAVIER CEDEX

RUBRIQUE 2: Identification des dangers

2.1 Classification de la substance ou du mélange

N'est pas une substance ni un mélange dangereux conformément au règlement (CE) No. 1272/2008.

2.2 Éléments d'étiquetage

Pas de pictogramme de danger, pas de mention d'avertissement, pas de mention(s) de danger, pas de conseil(s) de prudence requis


www.sigmadralich.com

FICHE DE DONNÉES DE SÉCURITÉ

conformément au Règlement (CE) No. 1907/2006

RUBRIQUE 1: Identification de la substance/du mélange et de la société/l'entreprise

Identificateurs de produit

Nom du produit : Albumine de sérum bovin

Code Produit : A9418
Marque : Sigma
No REACH : Pas de numéro d'enregistrement disponible pour cette substance car cette substance ou ses usages sont exempts d'enregistrement, le tonnage annuel ne nécessite pas d'enregistrement ou bien l'enregistrement est prévu pour une date ultérieure
No.-CAS : 9048-46-8

Utilisations identifiées pertinentes de la substance ou du mélange et utilisations déconseillées

Utilisations identifiées : Substances chimiques de laboratoire, Fabrication de substances

RUBRIQUE 2: Identification des dangers

Classification de la substance ou du mélange

N'est pas une substance ni un mélange dangereux conformément au règlement (CE) No. 1272/2008.

Éléments d'étiquetage

N'est pas une substance ni un mélange dangereux conformément au règlement (CE) No. 1272/2008.

NOM :

Prénom :

Salle N°

SAFETY DATA SHEET**BIO-RAD****NeoBiotech****1. Identification**Product identifier

Product Name Triton X-100

Other means of identification

Catalog Number(s) 1610407

UN/ID no UN3082

Recommended use of the chemical and restrictions on use

Recommended use Laboratory chemicals

2. Hazard(s) identificationClassification

This chemical is considered hazardous by the 2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Acute toxicity - Oral	Category 4
Skin corrosion/irritation	Category 2
Serious eye damage/eye irritation	Category 1

Hazards not otherwise classified (HNOC)

Not applicable

Label elementsDangerHazard statementsHarmful if swallowed
Causes skin irritation
Causes serious eye damage

Appearance Liquid

Physical state Liquid

Odor Odorless

Precautionary Statements - PreventionDo not eat, drink or smoke when using this product.
Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling.

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

Immediately call a POISON CENTER or doctor

IF ON SKIN: Wash with plenty of water and soap.

If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor if you feel unwell. Rinse mouth.

Safety Data Sheet**vector**
LABORATORIESIdentification

Product form	: Mixture
Product name	: Horse Anti-Goat IgG (H+L), Peroxidase
Product code	: PI-9500

Recommended use and restrictions on use

Use of the substance/mixture : Laboratory chemicals

SupplierVector Laboratories, Inc.
6737 Mayview Ave
Newark, CA 94560
U.S.A.
T (650) 697-3600 - F (650) 697-0339
customerservice@vectorlabs.comIndividual protection measures/Personal protective equipment

Hand protection:	
Protective gloves	
Eye protection:	
Safety glasses	
Skin and body protection:	
Wear suitable protective clothing	
Respiratory protection:	
In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment	

Personal protective equipment symbol(s):Information on toxicological effects

Acute toxicity (oral)	: Not classified
Acute toxicity (dermal)	: Not classified
Acute toxicity (inhalation)	: Not classified
Skin corrosion/irritation	: Not classified
Serious eye damage/irritation	: Not classified
Respiratory or skin sensitization	: Not classified
Germ cell mutagenicity	: Not classified
Carcinogenicity	: Not classified
Reproductive toxicity	: Not classified
STOT-single exposure	: Not classified
STOT-repeated exposure	: Not classified
Aspiration hazard	: Not classified
Viscosity, kinematic	: No data available

BioLegend®**PBS Concentrate (Previously Covance catalog# SIG-31020)****Catalog# / Size** 926201 / 1000 mL**Regulatory Status** RUO**Other Names** PBS**Previously** Signet Catalog# 1020
Covance Catalog# SIG-31020**Product Details****Formulation** 1M Liquid Concentrated Buffer Solution, pH 7.4 (+/- 0.1).**Storage & Handling** This product should be stored at room temperature.

NOM :

Prénom :

Salle N°

Les coupes ont été obtenues à partir d'un échantillon de moelle épinière sectionné au cryostat en coupes de 40 µm d'épaisseur. Elles ont été réparties dans les 24 puits d'une plaque multi-puit ; 3 à 6 coupes par puit dans un volume de 350µL de PBS 0,1M. Ce volume de 350µL est sélectionné car il permet à toutes les coupes d'être correctement baignées dans le liquide.

Le protocole ci-dessous a été réalisé :

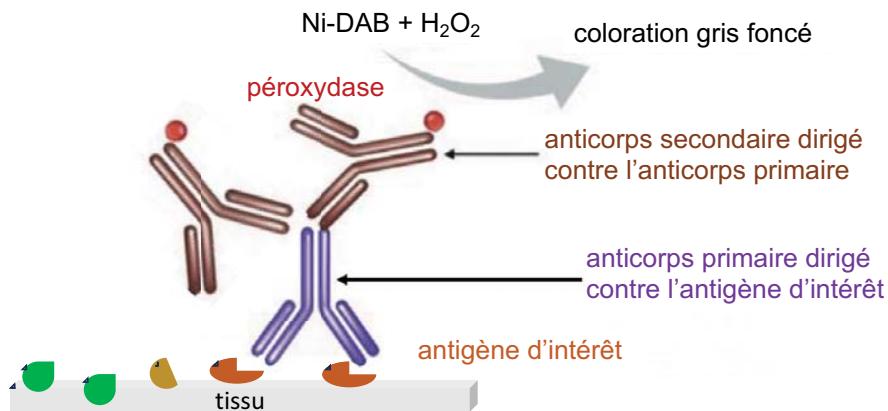
- PBS 0,1M ; 5 min à température ambiante sous agitation ;
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 3% dans PBS 0,1M ; 30 min à température ambiante sous agitation ;
- PBS 0,1M ; 5 min à température ambiante sous agitation ; x2 ;
- Triton X-100 à 0,3% dans PBS (PBST) ; 5 min à température ambiante sous agitation ;
- Albumine de Sérum bovin (*Bovine Serum Albumin*, BSA) 1% dans PBST ; 45 min à température ambiante sous agitation ;
- Anticorps primaire polyclonal dirigé contre la choline acétyltransférase fait chez la chèvre au 1:1000 dans BSA 1%/PBST (Chemicon®-Sigma-Aldrich®, Gt-ChAT) ; 48h à 4°C ;
- PBS 0,1M ; 5 min à température ambiante sous agitation ; x3 ;
- Anticorps dirigé contre le fragment constant de l'anticorps Gt-ChAT couplé à une peroxydase au 1:500 dans BSA 1%/PBST (Vector Laboratories®, Horse Anti-Goat IgG Antibody (H+L), Peroxidase) ; 2h à température ambiante sous agitation ;
- PBS 0,1M ; 5 min à température ambiante sous agitation ; x3 ;
- Kit de substrats de la peroxydase (NeoBiotech®, Nickel Enhanced 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride Substrate kit) ; 1 à 5 min à température ambiante sous agitation ;
- eau déminéralisée ; 2 min à température ambiante sous agitation ; x3.

Expliquez le principe du protocole d'immunohistochimie qui a été réalisé en décrivant et schématisant les étapes clés dans le cadre ci-dessous et en indiquant le rôle de chacun des réactifs utilisés dans le tableau ci-dessous.

Les étapes clés :

- inactivation des peroxydases endogènes par l' H_2O_2
- rinçage pour éliminer surplus H_2O_2
- perméabilisation des membranes avant incubation avec des réactifs qui doivent pouvoir passer les membranes cellulaires : incubation avec une solution contenant le détergent Triton X-100
- renforcement de la spécificité du marquage en limitant l'accès des anticorps au tissu de façon à ce que seules les liaisons spécifiques anticorps/antigène puissent occasionner une liaison des anticorps résistant à un rinçage : 1/incubation avec une solution contenant la BSA avant incubation avec les anticorps et 2/incubation des anticorps dans une solution contenant de la BSA
- incubation avec l'anticorps primaire
- rinçage pour éliminer le surplus d'anticorps primaire et éliminer les liaisons non spécifiques
- incubation avec l'anticorps secondaire
- rinçage pour éliminer le surplus d'anticorps secondaire et éliminer les liaisons non spécifiques
- incubation avec le kit substrat de la peroxydase

-rinçage pour stopper la réaction enzymatique et éliminer le surplus de réactifs



<u>réactifs</u>	<u>rôles</u>
PBS	mise en solution des différents réactifs et rinçage entre incubations avec les différents réactifs permettant de limiter le bruit de fond enlevant les résidus perturbateurs ;
H ₂ O ₂	la réaction de détection utilisée dans ce protocole met en jeu une peroxydase. Or les tissus contiennent en quantité plus ou moins importante des peroxydases endogènes qui peuvent donc générer un bruit de fond non désiré. Ce bruit de fond peut être évité en incubant les tissus avec une solution d'H ₂ O ₂ qui va inactiver les peroxydases endogènes.
Triton X-100	c'est un détergent utilisé pour perméabiliser les membranes cellulaires ==> permettre l'entrée des réactifs dans les cellules ;
BSA	protéine utilisée comme agent de blocage qui empêche les liaisons non spécifiques des anticorps
anticorps Gt-ChAT	anticorps primaire utilisé à une concentration déterminée pour une fixation spécifique sur l'antigène d'intérêt, ici la choline acétyltransférase
anticorps Horse Anti-Goat IgG Antibody Peroxidase	anticorps secondaire pour amplification de l'immunomarquage ==> plusieurs anticorps secondaires fixés sur le fragment constant de l'anticorps primaire ==> plusieurs peroxydases pour un antigène donné
Kit de substrats de la peroxydase	solution de substrats de la peroxydase (DAB et H ₂ O ₂) ==> ici DAB réhaussée avec du Nickel obtention d'un précipité gris foncé

NOM :

Prénom :

Salle N°

Indiquez dans le tableau ci-dessous les calculs permettant d'obtenir les solutions à utiliser pour la réalisation du protocole d'immunohistochimie dans les 24 puits d'une plaque multi-puits. Pour cela, on vise à préparer les volumes de solutions nécessaires et suffisants. Indiquez le matériel utilisé pour la réalisation des mesures de volumes inférieurs à 15mL. Précisez les précautions en termes d'équipement de protection individuelles (EPI) nécessaires.

Volume nécessaire pour chaque étape du protocole : 24 puits x 350 μ L = 8400 μ L (8,4 mL)

solutions à préparer	justification du volume nécessaire	préparation de la solution
		si nécessaire, matériel utilisé pour la réalisation des mesures de volumes inférieurs à 15mL
solution de PBS 0,1M	<u>les besoins :</u> -pour les rinçages : 9 rinçages -pour la préparation de la solution d'H ₂ O ₂ à 3% : 1 incubation -pour la préparation de la solution de PBST utilisée seule ou avec la BSA : 4 incubations Donc -PBST seul et avec BSA -->4x8,4=33,6 mL -PBS seul pour rinçages --> 9x8,4=75,6mL -PBS pour solution H ₂ O ₂ --> 8,4mL ==> volume total nécessaire = 117,6mL, arrondit à 120mL	préparation à partir de la solution 1M disponible 12mL de PBS 1M +108mL d'eau déminéralisée
		matériel mesure volume(s)<15mL micropipette P10000 pour mesure des 12mL
		précaution(s) EPI blouse
solution d'H ₂ O ₂ 3%	-besoin uniquement pour étape d'inactivation des peroxydases endogènes --> 8,4mL	préparation 840 μ L d'H ₂ O ₂ à 30% + 7,56mL de PBS 0,1M
		matériel mesure volume(s)<15mL -micropipette P10000 ou P1000 pour mesure des 840 μ L -micropipette P10000 pour mesure des 7,56mL
		précaution(s) EPI blouse et gants
solution de PBST 0,3%	-besoin pour la préparation de la solution de PBST utilisée seule ou avec la BSA (4 incubations) -->4x8,4=33,6 mL, arrondit à 34mL	préparation 102 μ L de Triton X-100 + 33,9mL de PBS
		matériel mesure volume(s)<15mL -micropipette P200 ou P1000 pour mesure des 102 μ L
		précaution(s) EPI blouse, gants et lunettes
solution de BSA 1%	-besoin pour l'étape de blocage des sites non spécifiques et pour les incubations des anticorps primaires et secondaires --> 3x8,4=25,2 mL, arrondit à 26mL	préparation 0,26g de BSA dans 26mL de PBST 0,3%
		matériel mesure volume(s)<15mL #####
		précaution(s) EPI blouse, gants et lunettes

NOM :

Prénom :

Salle N°

solution d'anticorps anti-ChAT au 1 :1000	<p>-besoin pour étape incubation anticorps primaire --> 8,4mL</p>	<p>préparation 8,4µL d'anticorps +8,3916mL de BSA 1%/PBST 0,3%</p> <p>matériel mesure volume(s)<15mL -micropipette P10 pour mesure des 8,4µL -micropipette P10000 pour mesure des 8,392 mL de BSA 1%/PBST 0,3%</p> <p>précaution(s) EPI blouse, gants et lunettes</p>
solution d'anticorps anti-chèvre couplé à une peroxydase	<p>-besoin pour étape incubation anticorps secondaire --> 8,4mL</p>	<p>préparation 16,8µL d'anticorps +8,3832mL de BSA 1%/PBST 0,3%</p> <p>matériel mesure volume(s)<15mL -micropipette P100 pour mesure des 16,8µL -micropipette P10000 pour mesure des 8,383 mL de BSA 1%/PBST 0,3%</p> <p>précaution(s) EPI blouse, gants et lunettes</p>
solution de substrats de la peroxydase	<p>-besoin pour révélation immunodétection --> 8,4mL ... selon fiche technique, préparation par mL --> 9mL</p>	<p>préparation selon fiche technique, dans 9 mL d'eau déminéralisée, ajouter 9 gouttes du réactif 1, mixer (obtention tampon), ajouter 9 gouttes réactif 2 (substrat, chromogène, DAB), 9 gouttes réactif 3 (substrat H₂O₂), mixer, ajouter 18 gouttes Nickel (ion métallique qui augmente le contraste du produit coloré résultant de la réaction d'oxydation de la DAB)</p> <p>matériel mesure volume(s)<15mL -P10000 pour mesure des 9mL</p> <p>précaution(s) EPI blouse, gants et lunettes</p>

Quels contrôles devraient avoir été faits en parallèle de l'immunodétection ayant permis l'obtention des coupes immunomarquées permettant de s'assurer de la spécificité du marquage obtenu et d'apprécier un éventuel marquage non spécifique ?

-inhibition de l'activité de l'anticorps à l'aide de l'antigène :

préincuber l'anticorps primaire avec la séquence peptidique utilisée pour produire l'anticorps
 --> les sites de liaison occupés par l'antigène ne pourront ainsi plus se fixer sur les molécules reconnues dans les tissus ; c'est un test d'inhibition ou de compétition ==> absence de neurones immunomarqués

-omettre l'anticorps primaire :

tous les marquages causés par l'anticorps primaire disparaissent et ne persistent que les marquages non spécifiques dus à la fixation non spécifique de l'anticorps secondaire ou à présence dans le tissu de peroxydase endogènes n'ayant pas été suffisamment inactivées ==> absence de neurones immunomarqués

-omettre le système de révélation :

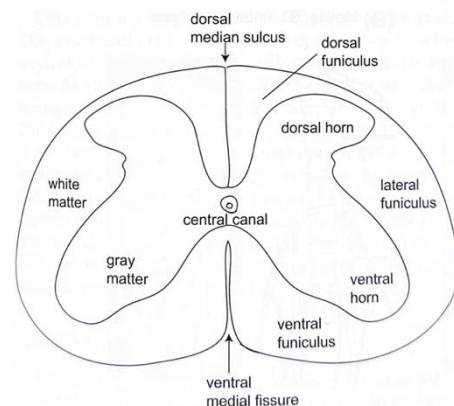
soit l'anticorps secondaire, soit la solution de substrats de la peroxydase ==> absence de neurones immunomarqués et absence de bruit de fond

Observer une des coupes dont vous disposez au microscope (annexe 3) et faites un dessin orienté et légendé de votre observation en localisant les motoneurones parmi les populations de cellules immunomarquées.

Présentez à l'un des surveillants de votre salle votre observation au microscope et le dessin légendé et orienté correspondant.

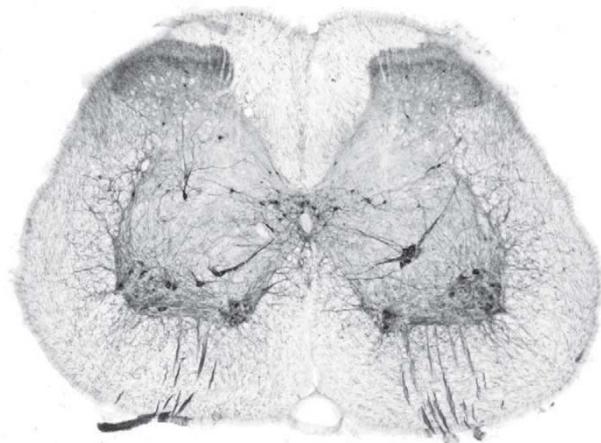
Orientation/légendes du dessin :

- ventral/dorsal (à repérer par la présence de la fissure médiane ventrale + forme de la substance grise)
- substance grise (régionalisation en corne)/substance blanche (régionalisation en cordon)
- canal central=canal de l'épendyme



Observation coupe soumise au protocole immunodétection :

- marquage d'une petite quantité de corps cellulaires de neurones et leurs prolongements
- selon le niveau de coupe, possibilité de visualiser les faisceaux d'axones traversant la substance blanche et formant les racines ventrale (motrices)
- localisation des neurones marqués :
 - *dans la corne ventrale (Rexed 9)
 - ==> des motoneurones
 - * autour du canal central et dans la corne intermédiaire



Qu'est-ce qu'un motoneurone ? Quel est le messager chimique qu'il libère ?

- Un motoneurone est un neurone dont l'axone est en lien synaptique avec une fibre musculaire.
- Un motoneurone libère de l'acétylcholine.

Au niveau moléculaire, ce qui entraîne la fixation du messager chimique libéré par le motoneurone sur le récepteur présent sur la cellule cible. Développez votre réponse en décrivant les acteurs moléculaires intervenant de la réception du messager chimique au sein de la jonction neuromusculaire à l'effet global observé sur la cellule cible. Vous pouvez vous aider de schémas explicatifs.

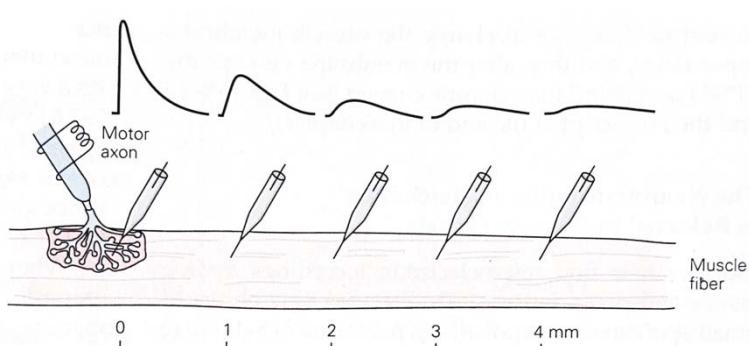
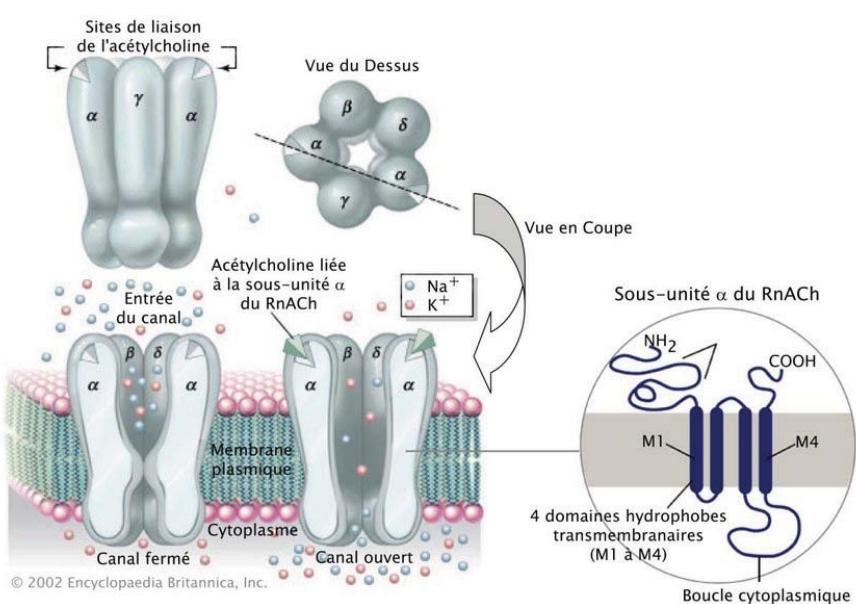
-fixation de l'acétylcholine sur le récepteur nicotinique présent sur la membrane de la fibre musculaire

L'acétylcholine libérée (par l'élément présynaptique) se fixe sur un récepteur de type nicotinique (ionotropique ; pentamère : 2 sous-unités alpha, 1 sous-unité beta, 1 sous-unité gamma) présent sur la membrane plasmique (sarcolemme) de la fibre musculaire (élément post-synaptique)

; 2 molécules d'acétylcholine se fixent sur les 2 sous-unités alpha du récepteur ce qui conduit à un changement de conformation du pentamère à l'origine de l'ouverture d'un pore perméable essentiellement aux ions Na^+ et K^+ et également dans une moindre mesure aux ions Ca^{2+} et Mg^{2+} . Chaque sous-unité du récepteur nicotinique comprend 1 grand domaine extracellulaire en N-terminal, 4 domaines transmembranaires (M1-M4 ; hélices α ; le canal est délimité par les sous-unités M2 de chaque sous-unité) et 1 court domaine extracellulaire en C-terminal.

Les gradients de concentration des ions impliqués conduisent à une forte entrée de Na^+ et une faible sortie de K^+ ==> dépoliarisation appelée potentiel de plaque motrice qui se propage le long de la membrane de façon électrotonique (diminution de l'amplitude de la dépoliarisation en fonction de la distance parcourue).

Rq, l'acétylcholine estérase présente dans la fente synaptique dégrade l'acétylcholine ce qui met fin aux effets du messager chimique.

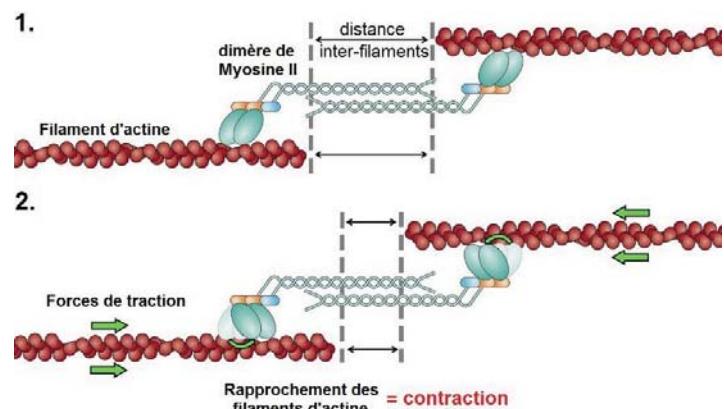
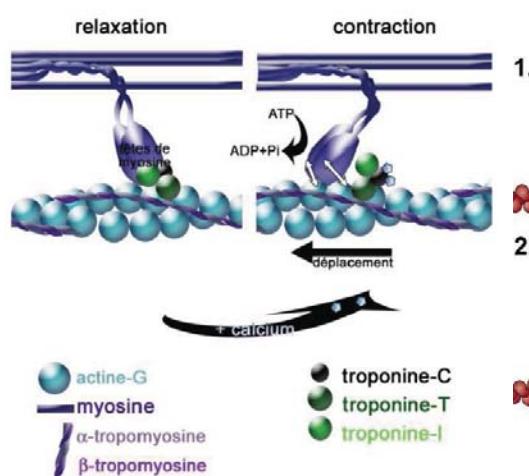
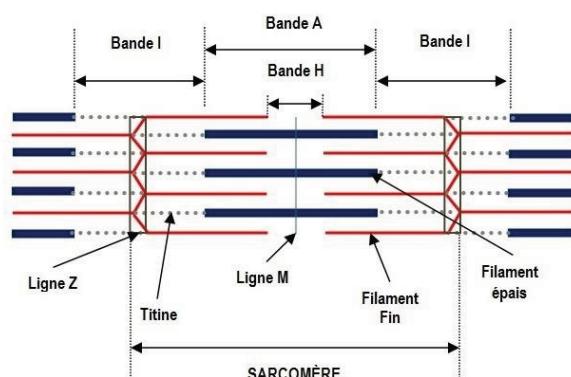
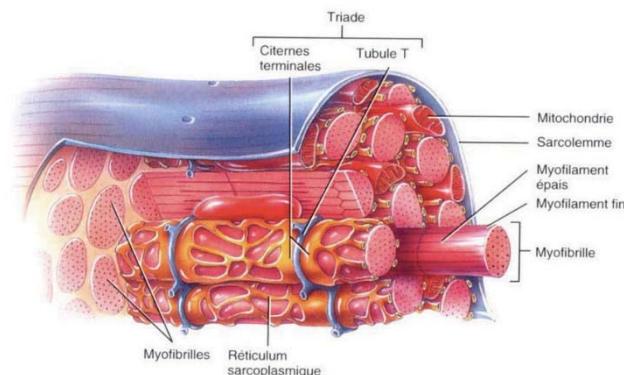


-du potentiel de plaque motrice à la contraction musculaire.

Si l'amplitude du potentiel de plaque motrice est importante (= dépasse un seuil critique), des canaux Na^+ voltage-dépendant situés sur la membrane postsynaptique s'ouvrent et induisent la genèse d'un potentiel d'action musculaire. Ce potentiel d'action se propage à l'ensemble du sarcolemme, y compris le long des tubules transverses (tubules T), atteignant les triades

(structure formée d'un tubule T entouré de réticulum sarcoplasmique de part et d'autre). Au niveau de ces triades, l'arrivée du potentiel d'action conduit à la libération de Ca^{2+} stockés dans le réticulum sarcoplasmique ; la membrane des tubules T contient des récepteurs à la dihydropyridine (DHP) mécaniquement liés à des canaux Ca^{2+} situés sur le réticulum sarcoplasmique (également appelé récepteur à ryanodine) ==> sortie de Ca^{2+} du fait du gradient de concentration.

L'augmentation de Ca^{2+} intracellulaire permet la contraction par glissement des filaments épais de myosine sur les filaments fin d'actine au sein de chaque sarcomère. La troponine L ne démasque les sites de fixation de la myosine sur l'actine que lorsque la troponine C a lié du Ca^{2+} et change de conformation. Une fois la tropomyosine déplacée avec le complexe troponine, la myosine accède à son site de fixation sur l'actine. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP permet le relâchement de la tête de myosine qui vient s'associer avec l'actine. La libération de l'ADP provoque le mouvement de la tête de myosine vers l'extérieur du sarcomère, ce qui raccourcit la myofibrille et réalise la contraction musculaire. Au repos, la myosine est liée à une molécule d'ATP.



NOM :

Prénom :

Salle N°

Annexe 1

- prélever à l'aide d'une aiguille lancéolée ou de la pointe d'un scalpel une petite quantité de cortex cérébral ;
- étaler le tissu prélevé sur une lame en verre ;
- déposer 1 à 2 gouttes de colorant sur le tissu étalé ; laisser agir 2 minutes ;
- déposer 1 à 2 gouttes d'eau délicatement ;
- recouvrir d'une lamelle.

Annexe 2

- prélever un nerf sur la distance la plus longue possible ;
- déposer le nerf prélevé sur une lame en verre ;
- maintenir une des extrémités du nerf avec une pince ;
- peigner plusieurs fois le nerf avec une aiguille de l'extrémité maintenue par la pince à l'autre extrémité ;
- déposer 1 à 2 gouttes de colorants ; laisser agir 2 minutes
- recouvrir d'une lamelle.

Annexe 3

- déposer une coupe de moelle épinière sur une lame en verre à l'aide d'un pinceau ;
- déposer quelques gouttes d'eau sur la coupe ;
- recouvrir d'une lamelle.

5.5 Epreuve de travaux pratiques de contre-option du secteur B : Sujet et commentaires

Présentation générale

L'épreuve de travaux pratiques sur les connaissances générales du secteur b portait sur l'étude d'un organisme, l'Abeille domestique *Apis mellifera* (aussi appelée Abeille européenne). L'objectif était à la fois d'aborder des aspects variés du programme (écologie, reproduction, histologie, anatomie, génétique) ainsi que des compétences diverses comme la réalisation de coupes histologiques, avec ou sans coloration, le suivi de protocoles expérimentaux, la réalisation de calculs ou la présentation de résultats et leur analyse.

Une grande liberté a été laissée aux candidats pour présenter et valoriser leur exploitation du matériel biologique fourni, et toute présentation pertinente était valorisée dès lors que la communication écrite ou graphique était de qualité et montrait une compréhension de la part du candidat.

La première partie s'appuyait les relations interspécifiques de l'abeille. Il s'agissait tout d'abord de reconnaître quelques espèces susceptibles d'être présentes dans l'environnement de l'abeille, et d'indiquer le type de relation interspécifique entretenue avec l'abeille. Une étude anatomique (montage de trachée thoracique) permettait de déterminer si un échantillon fourni était ou non parasité par un acarien, *Acarapis woodi*.

La seconde partie, la plus longue, traitait de l'abeille dans le cadre de la pollinisation. Il s'agissait en premier lieu de savoir quel type de pollen était susceptible d'être transporté par des insectes, avant de s'intéresser spécifiquement à l'abeille. Les candidats devaient présenter des adaptations morphologiques au transport du pollen, utiliser une vidéo pour faire le lien entre la danse des abeilles et la localisation d'une source de nourriture, réaliser des calculs de surface pollinisée par une abeille et calculer des indices de biodiversité de l'écosystème à partir de l'étude de pollens. Les candidats devaient ensuite, à partir de divers échantillons, montrer que les abeilles prélevent avec leurs pièces buccales dans leur environnement du nectar mais aussi du miellat.

Enfin, une troisième partie plus théorique permettait aux candidats de discuter des facteurs génétiques à l'origine du déterminisme du sexe chez l'abeille.

L'espèce choisie, l'abeille, est un organisme courant dans l'environnement mais également dans le débat public, et le jury insiste sur l'importance de connaître la biologie fondamentale

de cette espèce si souvent évoquée. Par ailleurs, sa petite taille et sa relative abondance en font un organisme de choix dans un cadre pédagogique. Le jury espère que ce sujet permettra aux enseignants et futurs enseignants de proposer des manipulations à leurs élèves et étudiants.

Présentation détaillée et commentaires

L'épreuve était longue et peu de candidats ont pu tout traiter, ce dont le jury a bien sûr tenu compte. Toutefois, le jury rappelle l'importance de prendre connaissance de l'ensemble du sujet au début de l'épreuve et d'organiser son temps en conséquence. Une coloration carmino-vert nécessite par exemple des temps d'incubation minimum et ne peut être commencée trop tardivement.

Première partie

Le jury rappelle qu'une culture naturaliste de base est essentielle à l'enseignement des SV-STU. Les reconnaissances d'espèces ayant globalement été peu réussies, les interactions avec l'abeille l'ont en conséquence également été. Deux espèces étaient à reconnaître par leur chant : la Mésange charbonnière ainsi que le Pinson des arbres. Le jury s'étonne que moins de 5% des candidats sachent reconnaître ces deux espèces pourtant largement abondantes dans de nombreux milieux. Il est regrettable que la culture naturaliste se restreigne à une capacité de reconnaissances « sur photo », et le développement d'outils numériques et d'applications d'identification d'espèces ne doit pas remplacer une culture naturaliste fondamentale.

Pour déterminer si l'abeille était infectée par un acarien dans une trachée, il était nécessaire d'ouvrir l'animal et d'observer une trachée au microscope. Les préparations de trachées n'ont que trop rarement été effectuées, les candidats réalisant souvent un simple décollement de la cuticule mettant en évidence les muscles alaires. Le jury regrette que le matériel optique adéquat à l'échelle étudiée soit rarement utilisé (confusion microscope / loupe binoculaire). De plus, le jury rappelle que l'épreuve est muette et qu'une explication orale venant pallier une absence de légende sur la production écrite ne peut être valorisée.

Seconde partie

Une dissection florale de Poacée était demandée, à mettre en lien avec le type de pollinisation. Si les candidats ont dans l'ensemble bien identifié la famille de la plante, les légendes étaient globalement incorrectes. Une *dissection florale* n'est pas une *formule florale*, ni un *diagramme floral*, et il n'était pas utile de réaliser ce qui n'était pas demandé. Trop peu de candidats ont mis en évidence et expliqué le rôle (pourtant demandé) des pièces florales.

Quant aux ressemblances entre les pollens de familles différentes, le jury a relevé dans une seule copie (!) le terme « d'homoplasie » aux dépens du terme de « convergence ». Le jury rappelle que les deux termes ne sont pas synonymes et que, en l'absence d'informations supplémentaires, il convient d'utiliser « homoplasie » plutôt que « convergence ».

Les adaptations anatomiques à la récolte du pollen ont plutôt été bien réussies par les candidats, mais avec une vision du processus de pollinisation (l'abeille utilise ses pattes une fois arrivée sur la fleur) qui n'incluait que trop rarement le vol en lui-même.

L'atelier permettant de retrouver la localisation des fleurs à partir d'une danse d'abeille a été bien réussi par les candidats.

Il s'agissait ensuite de calculer la surface pollinisée par une abeille, la ruche constituant le point central, et la distance de butinage (le rayon) étant donnée. Le jury s'étonne qu'environ 60% des candidats ne connaisse pas la formule d'un disque ($\pi \times R^2$ – programme de cycle 3 en mathématiques) et ne sache pas ensuite l'appliquer, les valeurs étant données. L'énoncé demandait explicitement de « *Calculer une surface* », et toutes les réponses non quantifiées qui expliquaient textuellement le comportement des abeilles n'ont pu donc être valorisées. Le jury rappelle qu'il est important de tenir compte des verbes d'action pour identifier les attendus du sujet.

Les indices de biodiversité à *calculer* (à nouveau) à partir de l'analyse de pollens ont donné lieu à seulement quelques réponses satisfaisantes. Le jury rappelle que les indices de Shannon et Simpson sont explicitement au programme de l'agrégation SV-STU. Les candidats ont néanmoins globalement bien critiqué l'utilisation du miel comme outil de mesure de la biodiversité dans l'écosystème.

Les candidats devaient ensuite étudier une fleur de Sauge et la disséquer afin de mettre en évidence des structures en lien avec la pollinisation. Il était explicitement demandé que la dissection florale réponde à une question et que certains organes soient mis en évidence et leur rôle expliqué. Sur la forme, le jury rappelle qu'une dissection se présente sur un support propre et pas directement sur la table ou sur la vitre de la loupe. Une feuille par exemple permet de fixer les parties de la fleur, de les légendier, en s'attachant uniquement aux légendes pertinentes dans le cadre de la question biologique posée. Globalement, les attendus d'une dissection florale sont rarement maîtrisés : présentation d'une partie des pièces seulement, position de l'ovaire et soudure peu ou mal montrée, et les légendes attendues en lien avec le mode de pollinisation sont rares bien que demandées. De nombreux candidats ont également confondu l'organisation de la fleur des Lamiacées avec celle des Fabacées.

La coupe d'aiguille de pin et la coloration carmino-vert associée ont été techniquement plutôt bien réussies, mais de nombreuses confusions ont été réalisées entre canaux résinifères et phloème.

Enfin, l'exercice sur les pièces buccales a été plutôt moyennement réussi. Il était à nouveau demandé d'expliciter le rapport structure/fonction de ces pièces, ce qui a rarement été réalisé. L'extraction des pièces buccales de l'abeille a été souvent tentée avec des résultats mitigés (exactions partielles ou fragmentées).

Troisième partie

Les caryotypes mâles et femelles ont été bien déterminés, mais l'explication de l'origine de ces caryotypes était parfois réduite à des mots-clefs (« parthénogénèse », « arrhénotoquie »...) alors qu'un schéma avec des formules chromosomiques était plus judicieux.

L'explication de l'origine et de la proportion des mâles aux yeux blancs supposait de réaliser des tableaux de croisement ; ceux-ci ont souvent été réalisés, mais les conclusions restent incomplètes sur les proportions des différents génotypes associés à leurs phénotypes.

Enfin, probablement par manque de temps, la dernière question relative aux mâles diploïdes n'a pas toujours été traitée, ou alors de manière globale en termes de probabilité.

Dans les pages suivantes, le sujet est présenté avec des éléments de correction apparaissant **en bleu**.