

**SVT, EPREUVE SUR SUPPORT DE DOCUMENTS
BIOLOGIE**

Durée conseillée : **1h45**

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 vérifiera et, éventuellement, remplacera le sujet.

Ce sujet comporte 9 pages numérotées de 15 à 23 et une annexe format A3 à rendre avec la copie.

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

LA COVID-19 À DIFFERENTES ECHELLES

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

Le sujet comporte **4 thèmes totalement indépendants**.

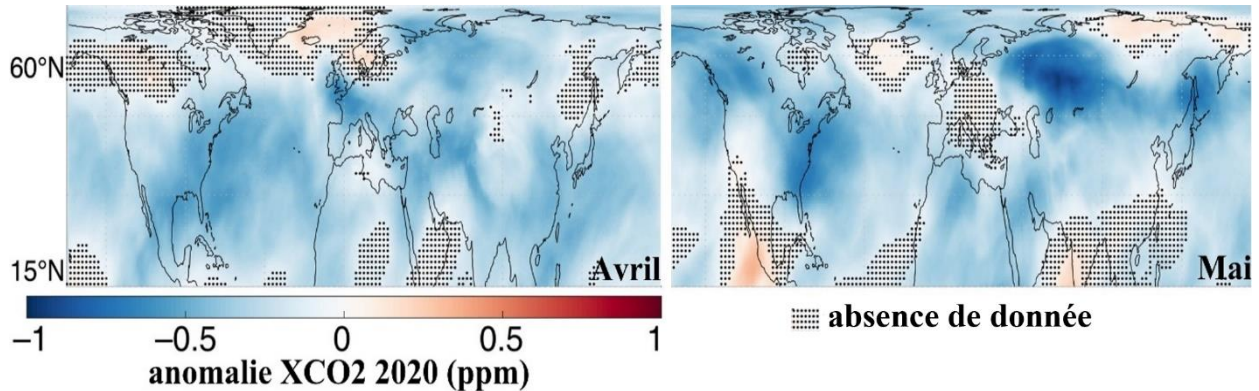
Les barres verticales sur les graphes et histogrammes représentent l'écart-type ou l'erreur standard à la moyenne. On admettra que les résultats sont différents si les barres d'erreurs ne se chevauchent pas.

Bibliographie :

- Samelson *et al.* (2022) *Nature cell biology*, **24**, 24-34
de Camargo *et al.* (2022) *J Virol Methods* **299**, 114341
Weir *et al.* (2021) *Science Advances* **7**, 45
Mies *et al.* (2021) *Thorax* **76** 1044-1046
Menter *et al.* (2020) *Histopathology* **77**, 198-209
Ackermann *et al.* (2020) *N Engl J Med* **383** 120-128
Li *et al.* (2003) *Nature* **426** 450-454

Thème 1 – Des effets sur l’atmosphère ?

Document 1 : Carte des **anomalies** dans la concentration en CO₂ dans la troposphère de l’hémisphère Nord, en avril-mai 2020, période marquée par le confinement et la restriction des activités humaines dans de nombreux pays. Les valeurs positives ou négatives exprimées en ppm (parties par million) correspondent aux valeurs mesurées, par rapport aux valeurs théoriques prévues dans un scénario sans COVID-19 ni pandémie mondiale.

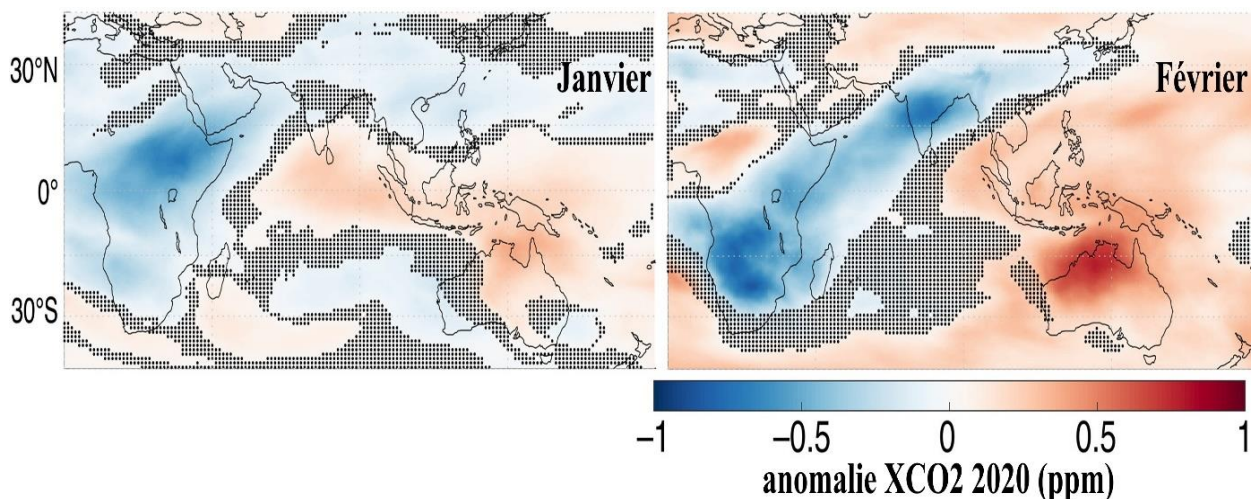


Question 1 :

1.1. Décrivez succinctement les principales anomalies visibles dans le document 1.

1.2. Interprétez ces anomalies, en précisant leurs causes probables, en lien avec la COVID-19. Indiquez clairement les réservoirs et les flux de carbone impliqués.

Document 2 : Carte des **anomalies** dans la concentration en CO₂ dans la troposphère d’une autre région, centrée sur l’océan Indien, en janvier et en février 2020, soit **avant les confinements et restrictions d’activité**. Les valeurs positives ou négatives exprimées en ppm (parties par million) correspondent aux valeurs mesurées par rapport aux modèles théoriques prévisionnels globaux.



Question 2 :

2.1. À la lumière des anomalies repérées dans le document 2, complétez, nuancez et/ou critiquez les réponses que vous avez proposées à la **question 1**.

2.2. Proposez une hypothèse argumentée pour expliquer une anomalie repérée dans le document 2.

Thème 2 — Imagerie d'alvéoles pulmonaires

Dans ce thème 2, on cherche à révéler plusieurs problèmes affectant les personnes atteintes de la COVID-19 (observations *post mortem*).

Document 3 : Alvéoles pulmonaires chez une personne saine (**A**) et chez des personnes atteintes de la COVID-19 (**BCDE**).

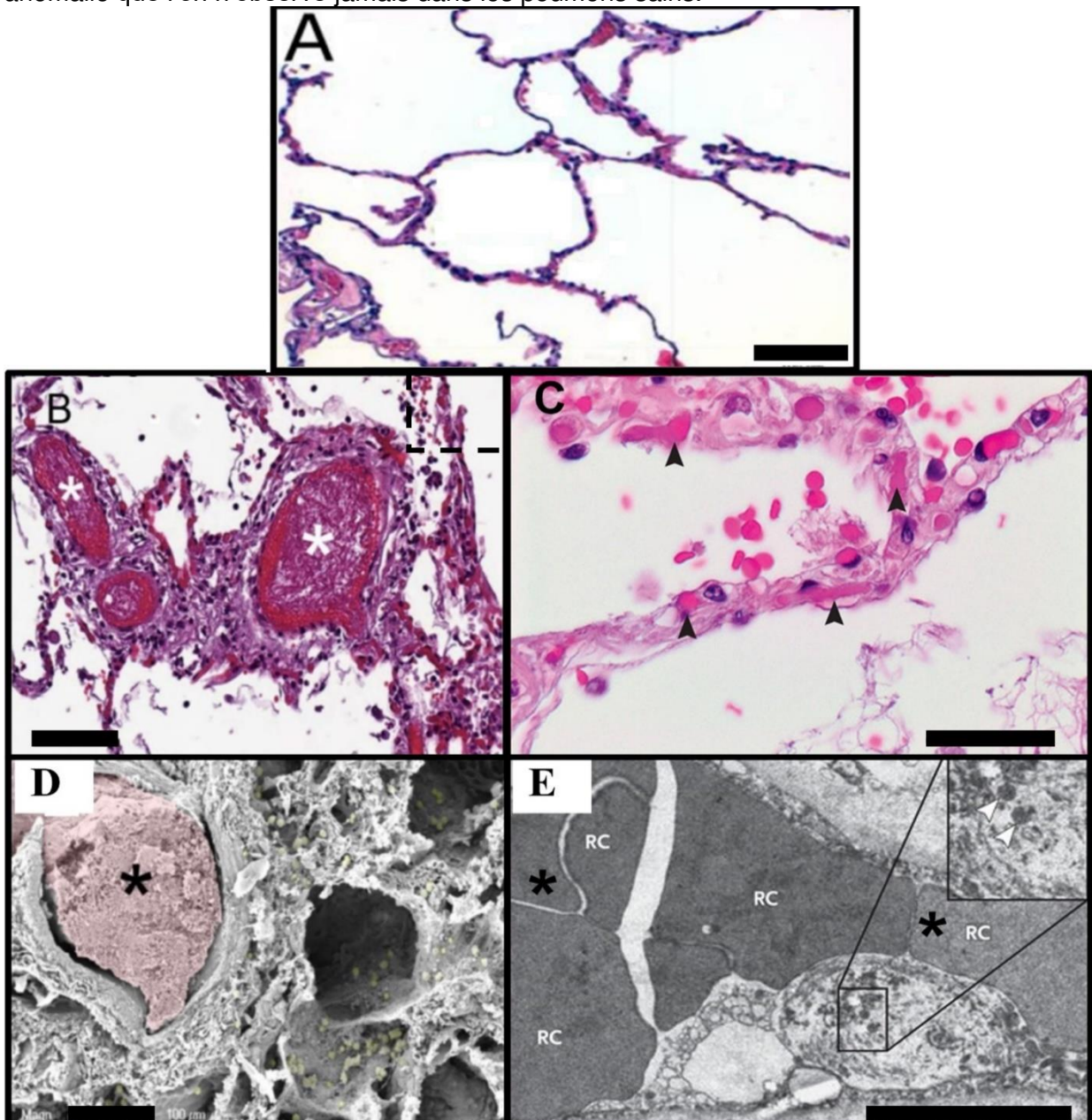
A : coloration hématoxyline – éosine (HE), barre d'échelle 100 μm .

BC : coloration HE, barres d'échelle : 100 μm en B ; 50 μm en C. Le cliché C correspond à ce que l'on pourrait voir, par exemple, au niveau du rectangle tracé dans le cliché B.

D : barre d'échelle : 100 μm . Un traitement de l'image avec des fausses couleurs montre des cellules sanguines en rose et des cellules immunitaires en jaune clair.

E : barre d'échelle : 5 μm . Les pointes de flèches blanches (triangles blancs) montrent des particules virales. RC = red cells = globules rouges = hématies.

Les astérisques * (clichés B, D et E) ainsi que les pointes de flèches (triangles noirs, cliché C) indiquent une même « **anomalie** », liée à une agrégation de globules rouges immobilisés, anomalie que l'on n'observe jamais dans les poumons sains.

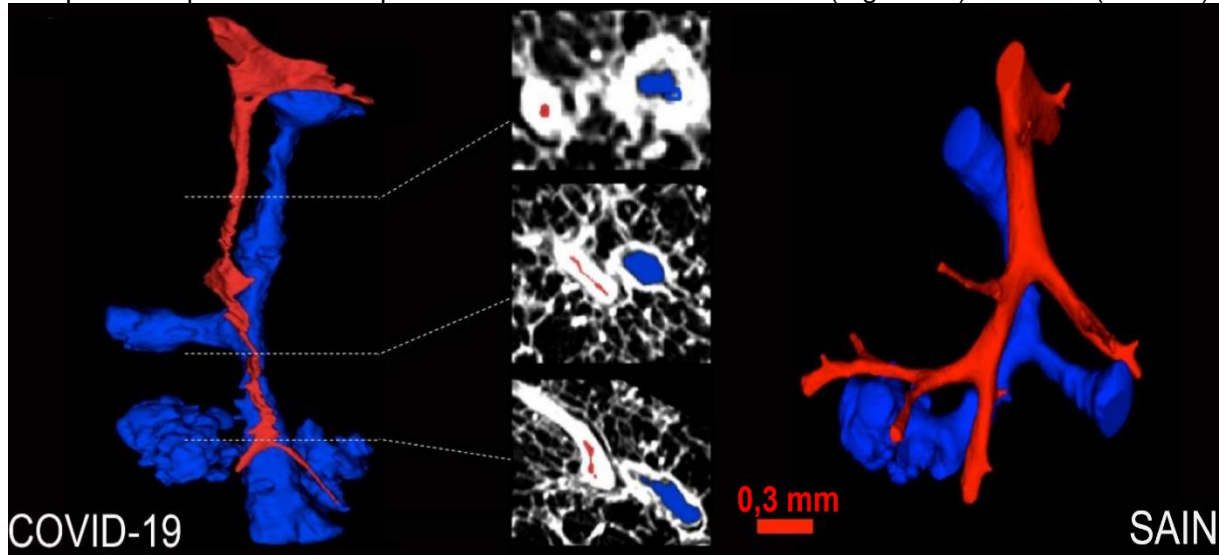


Question 3 :

En vous aidant des quatre clichés B, C, D et E, réalisez un schéma titré et légendé d'une alvéole pulmonaire **en contexte pathologique** d'infection par la COVID-19.

Sous forme de légendes, indiquez clairement dans votre schéma **plusieurs modifications ou problèmes** affectant les alvéoles pulmonaires, dans ce contexte pathologique.

Document 4 : Reconstruction 3D des voies aériennes (bleu) et des artérioles (rouge) dans une partie du poumon d'une personne atteinte de la COVID-19 (à gauche) ou saine (à droite).



Question 4 :

4.1. D'après le document 4, identifiez une autre anomalie, au niveau des artérioles, chez la personne atteinte de la COVID-19. Une réponse succincte est attendue.

4.2. Les auteurs de ces travaux avancent que « **l'anomalie** » repérée dans le document 3 est responsable de l'anomalie vasculaire visible dans le document 4 : justifiez et expliquez succinctement.

Document 5 : Quelques traits personnels relatifs aux individus dont les poumons ont été observés dans le cadre de cette étude.

IMC = indice de masse corporelle (kg.m^{-2}), habituellement corrélé à un léger surpoids au-delà de 25 et à une obésité modérée au-delà de 30.

Interaction médicamenteuse = prise significative de médicaments pour d'autres pathologies.

Thrombose = formation de caillots dans le sang.

Numéro de référence du patient	1	2	3	4	5	6	7
Age (ans)	68	86	96	78	66	74	81
Genre	F	H	H	H	H	F	F
IMC (kg.m^{-2})	35	26	23	44	29	27	26
Assistance respiratoire lors de l'hospitalisation	Non	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non
Tabagisme	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
Hypertension	Oui						
Diabète de type II	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
Interaction médicamenteuse	Oui						
Poids des poumons (kg)	1,7	1,7	1,7	1,6	1,7	1,7	1,6
Thrombose artérielle pulmonaire	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Non	Oui

Question 5 :

5.1. En identifiant et en discutant de quelques traits personnels qui auraient pu influencer ou conduire aux observations faites dans les documents 3 et 4, menez une analyse critique de cette étude.

5.2. Proposez des pistes ou améliorations qui permettraient de prolonger cette étude et de renforcer la validité des résultats.

Thème 3 – Protéine humaine ACE2, infection des cellules cibles et recherche d'un traitement potentiel

Chez l'être humain, la **protéine ACE2** est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 : cette protéine de la **membrane plasmique** des cellules, présente dans différents organes (poumons, artères, ...), intervient dans la régulation de la pression artérielle. Par ailleurs, la **protéine ACE2** serait le **récepteur** aux protéines de surface du virus SARS-CoV-2. C'est ce que l'on souhaite établir dans ce thème 3.

Le document 6 ci-dessous résume les étapes d'un protocole d'immunoprécipitation.

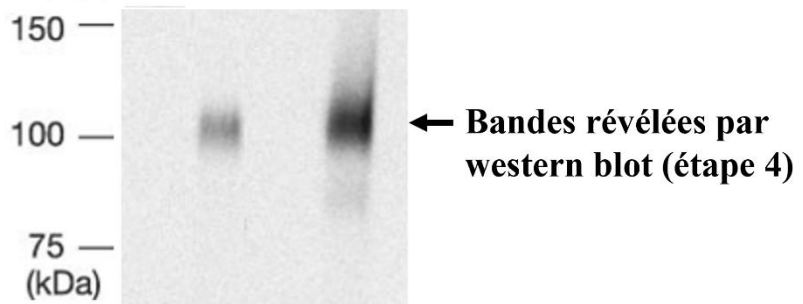
Document 6 :

- Etape 1 : on dispose de cellules épithéliales humaines, cultivées *in vitro* et efficacement infectées par le SARS-CoV-2. On y injecte un plasmide contenant (+) ou non (-) le gène codant la protéine ACE2. Ces cellules sont lysées (détruites) dans une solution tampon.
- Etape 2 : le lysat est incubé pendant une heure avec un anticorps : un anticorps anti-S spécifique de la protéine S de l'enveloppe du coronavirus, ou bien un anticorps anti-ACE2 spécifique de la protéine ACE2 humaine.
- Etape 3 : les anticorps et les protéines associées sont récupérés par immunoprécipitation.
- Etape 4 : les complexes protéiques obtenus sont dissociés par un traitement dénaturant. Les protéines qui les composent sont séparées par électrophorèse, en conditions dénaturantes. Après migration, les protéines sont révélées à l'aide d'un anticorps spécifique de la protéine ACE2 (western-blot).

Anticorps utilisé lors de l'étape 2 : anti-S anti-ACE2

Plasmide contenant (+) ou non (-)
le gène codant la protéine ACE2 :

Piste numéro : 1 2 3 4



Question 6 :

6.1. Interprétez les résultats visibles dans les pistes 3 et 4.

6.2. Interprétez les résultats visibles dans les pistes 1 et 2 et schématisez les complexes protéiques récupérés à la fin de l'étape 3.

6.3. Expliquez en quoi ces résultats confirment que la protéine ACE2 pourrait effectivement être le récepteur aux protéines de surface du virus SARS-CoV-2.

La **protéine BRD2** est connue pour être impliquée dans de nombreuses voies de transductions de signaux et contrôles transcriptionnels, dont ceux conduisant à la synthèse de la protéine ACE2.

In vitro, des cellules épithéliales pulmonaires humaines sont manipulées par la technique CRISPR-Cas9 :

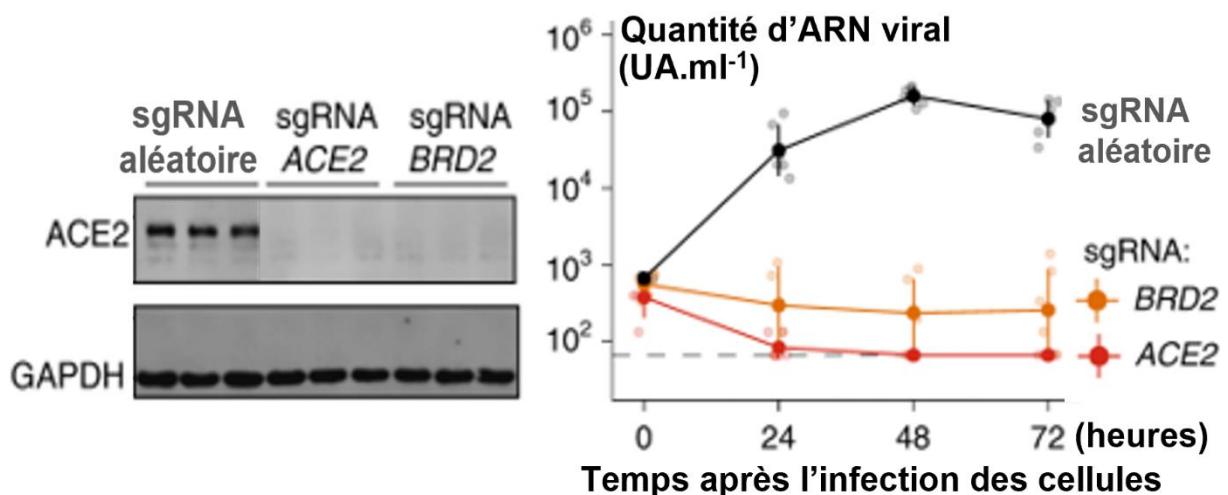
- * l'ARN guide nommé sgRNA *ACE2* bloque la synthèse de la protéine ACE2
- * l'ARN guide nommé sgRNA *BRD2* bloque la synthèse de la protéine BRD2.
- * Un sgRNA aléatoire (séquence quelconque) est également utilisé.

Ces trois lignées de cellules épithéliales pulmonaires, nommées sgRNA *ACE2*, sgRNA *BRD2* et sgRNA aléatoire, sont infectées par le virus SARS-CoV-2.

Document 7 :

A gauche : Par électrophorèse et western-blot, la présence de la protéine ACE2 est recherchée dans ces trois lignées cellulaires, 48 heures après leur infection par le virus. Les résultats sont montrés pour 3 réplicas de l'expérience. La protéine GAPDH, une enzyme de la glycolyse, est également révélée.

A droite : La quantité d'ARN viral (ARN du SARS-CoV-2) est évaluée au cours du temps, dans ces mêmes lignées cellulaires infectées, en unités arbitraires par millilitre (UA.ml⁻¹).



Question 7 :

7.1. Interprétez les résultats relatifs aux deux lignées cellulaires suivantes : sgRNA aléatoire et sgRNA *ACE2*.

7.2. Interprétez les résultats relatifs à la lignée sgRNA *BRD2* et faites un lien entre la protéine BRD2, la protéine ACE2 et l'infection par le virus SARS-CoV-2.

7.3. Expliquez, en une phrase, pourquoi il serait pertinent de tester l'effet d'un inhibiteur de la protéine BRD2 dans le cadre d'une infection des cellules par le virus SARS-CoV-2.

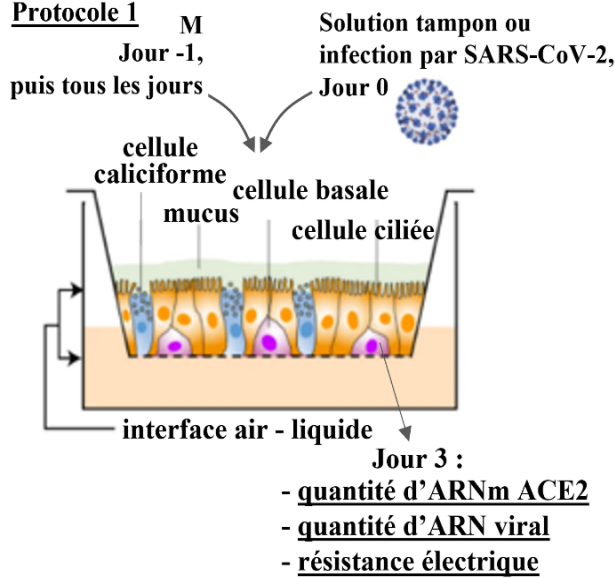
Document 8 :

Ce document présente deux protocoles expérimentaux pour tester l'effet de la **molécule M**, qui est un **inhibiteur** bien connu de la protéine **BRD2**.

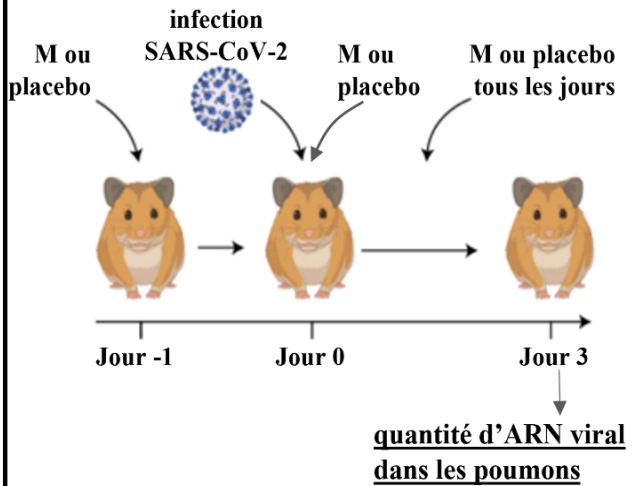
A gauche : protocole expérimental d'infection par le coronavirus (au jour 0) en présence de l'inhibiteur M administré tous les jours à partir du jour -1, dans un épithélium nasal humain artificiel, reconstruit à partir de 14 donneurs volontaires.

A droite : protocole expérimental d'infection chez des hamsters, sensibles au SARS-CoV-2. En souligné apparaissent les paramètres mesurés au jour 3. La résistance électrique de l'épithélium est un bon marqueur de son intégrité.

Protocole 1



Protocole 2

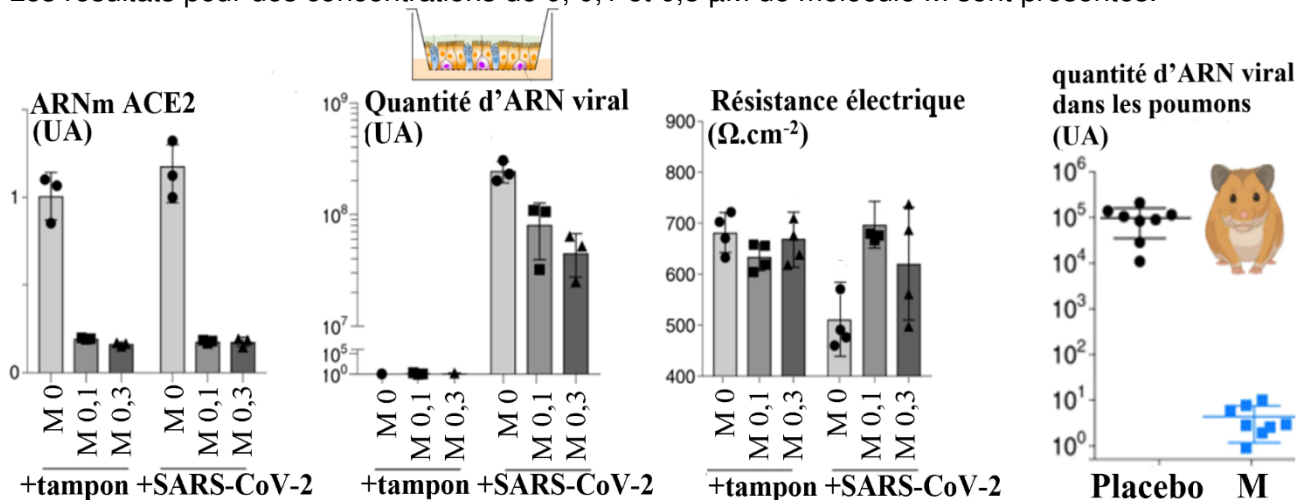


Question 8 :

Il s'agit de discuter de quelques-uns des choix expérimentaux qui ont été faits dans la mise en œuvre de ces deux protocoles. Pour cela, complétez directement le tableau présent dans l'annexe A3, qui est à rendre avec la copie.

Document 9 :

Les résultats pour des concentrations de 0, 0,1 et 0,3 μM de molécule M sont présentés.



Question 9 :

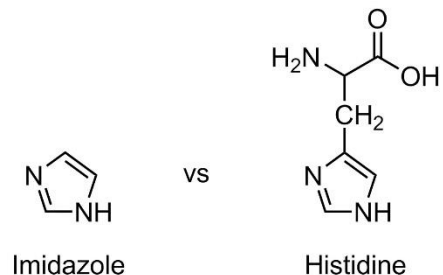
Interprétez les résultats. Concluez sur l'intérêt de l'inhibition thérapeutique de la protéine BRD2, dans le cadre d'un traitement potentiel contre le coronavirus (justifiez, discutez).

Thème 4 – Un protocole de purification d'une protéine virale

Nous nous intéressons à une technique de purification de la protéine N de la nucléocapside du coronavirus et à son efficacité. Le document 10 décrit les étapes de ce protocole.

Document 10 :

- Etape 1 : Par construction génétique et transgenèse, des cellules animales expriment la protéine N fusionnée au motif (His)₆ : il s'agit de la répétition de 6 résidus histidine, ajoutée en fin de chaîne polypeptidique de la protéine N.
- Etape 2 : Les cellules sont lysées dans une solution tampon. La solution obtenue est appelée **solution A**. La solution A est versée dans une colonne qui contient des billes recouvertes de Ni²⁺. Le Ni²⁺ à la surface des billes présente une forte affinité pour le motif (His)₆.
- Etape 3 : La colonne est lavée avec le même tampon non dénaturant que celui utilisé lors de l'étape 2. La solution alors récupérée en bas de la colonne est appelée **solution B**.
- Etape 4 : Le même tampon est utilisé mais il contient maintenant de l'imidazole à forte concentration : c'est la **solution d'élution**. Cette solution d'élution est à son tour versée dans la colonne et la solution récupérée en bas de la colonne est recueillie par petits volumes (ou fractions) dans des tubes successifs : on les appelle **fraction 1, fraction 2, fraction 3, etc...**

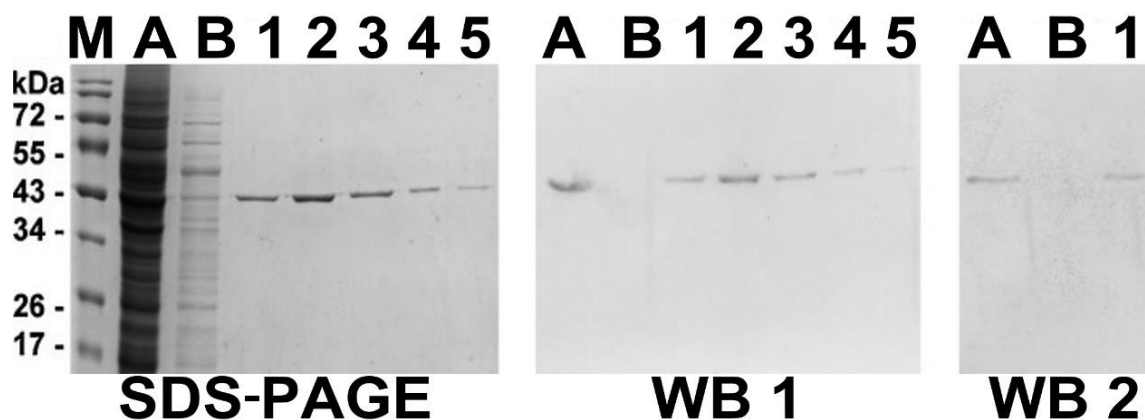


Question 10 :

- 10.1.** Nommez la technique utilisée ici. En complétant la trame dans l'annexe A3, schématisez le contenu de la colonne **pendant l'étape 3**, ainsi que le contenu de la solution B récupérée.
- 10.2.** D'après sa formule chimique, précisez l'intérêt de l'imidazole, utilisé à forte concentration pendant l'étape 4, dans ce protocole.

Document 11 :

- A gauche : électrophorèse en conditions dénaturantes (**SDS-PAGE, à gauche**) d'un marqueur de poids moléculaire M (mélange de protéines de poids moléculaires en kDa connus), de la solution A, de la solution B et des fractions 1 à 5. Après migration, les protéines totales sont colorées.
- Après électrophorèse, les protéines sont révélées à l'aide d'un anticorps spécifique soit du motif (His)₆ (western-blot 1 **WB1, au milieu**), soit de la protéine N (**WB2, à droite**).



Question 11 :

Interprétez les résultats visibles dans les pistes A et B, puis dans les pistes 1 et 2 (fractions 1 et 2).

FIN DU SUJET