

Tara Océan : de l'étude de la biodiversité aux applications thérapeutiques

La Fondation Tara Océan développe depuis près de 20 ans une pratique de la science ouverte et innovante qui vise à étudier l'impact des changements climatiques sur les océans. A l'appui d'une expertise scientifique de très haut niveau, la fondation TARA Océan a pour objectifs de sensibiliser et éduquer les jeunes générations, mobiliser les décideurs politiques et permettre à tous les pays l'accès à ces nouvelles connaissances.

Devant l'urgence climatique et la crise écologique, les expéditions scientifiques Tara se sont multipliées ces dernières années afin de récolter et analyser des milliers d'échantillons marins, en collaboration avec des organismes internationaux d'excellence (CNRS, CEA, EMBL, NASA...). Ces analyses ont montré que les organismes microscopiques marins tiennent une place essentielle dans l'Océan, représentant plus des deux tiers de la biomasse marine.



Source : capture d'écran du site de la fondation TARA Océan (site internet) <https://fondationtaraoccean.org/>, (consulté le 8 novembre 2022)

Durant ces 2 dernières années, la goélette Tara, véritable laboratoire flottant, a parcouru 70 000 kilomètres d'océans afin d'étudier le microbiome océanique.

Le microbiome désigne à la fois une communauté de microorganismes évoluant dans un habitat identifié, les interactions qui s'y établissent et les conditions environnementales.

Cette mission, nommée « *Microbiomes* », a ainsi pour objet d'étudier l'effet du changement climatique et l'impact du microbiome océanique à l'échelle de la planète.

Partie 1 - La métagénomique au service de l'étude de la biodiversité marine

L'étude du microbiome est un enjeu majeur pour évaluer l'état de la biodiversité qui nous entoure, en comprendre les impacts et contribuer à la préserver. C'est cette mission que le projet TARA Océan s'est fixé ces dernières années.

Différentes techniques sont mises en œuvre pour l'étude de la biodiversité au niveau des eaux de surface des différents océans de la planète. Le développement de la métagénomique permet aujourd'hui de nouvelles approches pour l'étude du microbiome.

1.1 Échantillonnage des eaux marines et première approche d'analyse de la diversité

Une des premières approches permettant de caractériser la biodiversité des échantillons récoltés consiste en une observation directe par microscopie. Le **document 1** présente des photographies d'un échantillon observé selon deux techniques microscopiques différentes.

- Q1- Analyser** le **document 1** pour montrer l'intérêt d'utiliser un marqueur fluorescent.
Q2- Formuler une hypothèse sur la nature biologique des particules mises en évidence dans le **document 1C**.

L'étude de la biodiversité océanique s'effectue à partir d'un échantillon prélevé dans les eaux marines. Le **document 2** présente la technique classiquement utilisée pour trier les organismes selon leur taille afin de les étudier pour évaluer la biodiversité marine.

- Q3- Identifier**, pour les rétentats 3 et 6, le ou les groupes(s) d'organismes retenus après filtration. Expliquer le raisonnement.

1.2 Mise en culture des prélèvements

L'un des rétentats est mis en culture afin de permettre la multiplication d'un maximum de micro-organismes tout en gardant une représentation de la population initiale pour étudier sa biodiversité.

Différents types de milieux de culture peuvent être utilisés. Selon leur composition, on parle de milieu minimum, empirique, enrichi ou encore synthétique.

Le **document 3** présente la composition de deux milieux de culture couramment utilisés pour le développement de micro-organismes marins.

- Q4-** En utilisant les termes soulignés ci-dessus, **qualifier** les deux milieux présentés dans le **document 3**. **Argumenter** la réponse.
Q5- Argumenter le choix du milieu à utiliser pour mettre en évidence des micro-organismes autotrophes.

Les méthodes traditionnelles de culture et d'identification *in vitro* ont montré leurs limites et ne permettent de mettre en évidence qu'une minorité des micro-organismes d'un milieu complexe : 90% des micro-organismes restent « incultivables ». La diversité des communautés bactériennes est donc largement sous-estimée par ces méthodes.

Q6- Émettre une hypothèse permettant d'expliquer pourquoi tous les micro-organismes récoltés ne sont pas cultivables dans ces deux milieux.

Le **document 4** présente les interactions qui peuvent se créer au sein d'une communauté des microorganismes dans son environnement naturel.

Q7- En s'appuyant sur la définition du terme « microbiome », **expliquer pourquoi** la mise en culture sur une boîte de pétri par une méthode d'ensemencement par épuisement n'est pas une méthode adaptée pour étudier le microbiome.

1.3 Apports des nouvelles technologies de biologie moléculaire

Ces dernières années ont vu émerger des techniques de biologie moléculaire qui se sont imposées comme une alternative aux tests d'identifications phénotypiques et culturels classiques.

L'ensemble de ces techniques modernes reposent sur le principe du séquençage des molécules d'ADN trouvées dans un échantillon environnemental.

La technique de séquençage historique selon la méthode de Sanger est présentée dans le **document 5**. Cette technique utilise des dNTP qui sont ajoutés pour la synthèse du deuxième brin d'ADN à partir d'une matrice et d'une amorce, ainsi que des ddNTP.

Q8- En s'appuyant sur la modification structurale du ddNTP par rapport au dNTP, **expliquer pourquoi** la fixation d'un ddNTP sur l'ADN néo-synthétisé entraîne l'arrêt de la synthèse.

Q9- Identifier, sur le gel d'électrophorèse, la bande correspondant au plus petit brin néosynthétisé. **En déduire** le ddNTP ajouté et montrer qu'il est complémentaire à la séquence de l'ADN matrice.

Q10-Déterminer alors la séquence nucléotidique complète de l'ADN à séquencer à partir du résultat d'électrophorèse.

La technique selon la méthode de Sanger a laissé place à des techniques de séquençage à haut débit permettant le développement de la métagénomique, analyse de l'ensemble génomes des organismes présents dans un échantillon. La technique Illumina® est une de ces méthodes de séquençage. Ses caractéristiques sont présentées dans le **document 6** en comparaison avec le séquençage selon la méthode Sanger.

Q11-Poser le calcul permettant d'établir le nombre de bases séquencées à chaque opération de séquençage par la technique selon la méthode de Sanger.

Q12-Expliquer pourquoi la technique de séquençage Illumina® est dite à « haut débit » en comparaison avec la technique selon la méthode de Sanger.

La technologie Nanopore®, présentée dans le **document 7**, est une nouvelle approche permettant la mise en œuvre du séquençage de longs fragments d'ADN. Elle repose sur l'utilisation d'une puce comportant une membrane percée de nombreux nanopores de nature protéique. La molécule d'ADN à séquencer, en traversant un nanopore, entraîne une modification du courant ionique, cette modification est dépendante de la séquence de l'ADN.

Q13-Émettre une hypothèse permettant d'expliquer comment chacun des 4 nucléotides influence différemment le flux ionique dans le pore.

Q14-Présenter deux avantages de la technique Nanopore® par rapport à la technique Illumina®.

1.4 Bilan

Q15-À partir de l'ensemble de la partie 1, **exposer l'intérêt** de l'utilisation de la métagénomique pour l'étude du microbiome d'un échantillon d'eau marine.

Partie 2 - Les diatomées : un espoir dans la lutte contre les gaz à effet de serre ?

Les microorganismes marins contribuent à capter le dioxyde de carbone pour le transformer en matière organique et produisent le dioxygène permettant la respiration des autres organismes : le microbiome océanique a un impact sur des paramètres d'intérêt pour l'humanité que sont le taux atmosphérique de CO₂ et la disponibilité de ressources marines. L'évaluation de ces services écosystémiques, en particulier la contribution des diatomées, fait partie des objets d'étude de Tara Océan.

Des prélèvements ont été réalisés au cours des expéditions de « Tara Océan », avec pour objectif d'étudier le changement climatique en réalisant des relevés de grandeurs physico-chimiques au niveau des principales régions des océans.

Une étude a été menée pour mieux connaître l'influence de ces facteurs physico-chimiques sur le développement des diatomées marines et sur leur capacité à fixer du carbone à partir du CO₂.

2.1 Organisation et place des diatomées dans l'environnement marin

Le **document 8** présente les diatomées, organismes marins largement répandus dans les océans et jouant un rôle fondamental dans le maintien de l'homéostasie environnementale.

Q16-Proposer une définition pour chaque terme souligné dans le texte extrait de la chronique d'une expédition scientifique présentée dans le **document 8**.

Q17-Préciser le rôle de chaque organite présenté dans le **document 8C**.

Les diatomées collectées dans les océans participent au cycle du carbone présenté dans le **document 9**.

Q18-En mobilisant les informations pertinentes présentées sur le **document 9**, **montrer** l'importance que peuvent prendre les diatomées marines pour la préservation de l'environnement.

2.2 Étude d'une protéine régulatrice impliquée dans le métabolisme du carbone des diatomées : CbbX

Le changement climatique et les autres conséquences de l'activité humaine au niveau des océans entraînent l'augmentation des gaz à effet de serre comme le CO₂, l'augmentation de la température, l'acidification des océans ou encore des perturbations dans les cycles des nutriments.

Dans ce contexte, des chercheurs ont essayé de comprendre comment les diatomées marines s'adaptent dans différents environnements.

Ils se sont ainsi intéressés à l'assimilation du carbone et plus particulièrement à l'enzyme clé de fixation de ce dernier : la ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) carboxylase/oxygénase ou **Rubisco**.

Cette protéine enzymatique est l'une des plus abondantes sur terre et est responsable de la fixation de 100 milliards de tonnes de carbone chaque année. Le ribulose-1,5-bisphosphate, nommé RuBP dans la suite du sujet, est un substrat de la Rubisco.

Dans leurs chloroplastes, les diatomées possèdent une Rubisco de type « algue rouge » qui est l'une des plus efficaces avec une fonction carboxylase qui prédomine sur la fonction oxygénase.

Pour optimiser les réactions de carboxylation, la plupart des photoautotrophes ont développé des mécanismes actifs de concentration du dioxyde de carbone. Ces mécanismes permettent de maintenir une concentration en CO₂ plus élevée que celle de l'O₂ à proximité de la Rubisco.

Pour réaliser une photosynthèse optimale, la Rubisco subit une première étape d'activation par une protéine nommée Rubisco activase ou CbbX. L'étude de cette protéine a permis de mieux comprendre son intervention dans le mécanisme de régulation de l'activité de la rubisco. CbbX fonctionne en hydrolysant l'ATP pour modifier la structure de la Rubisco. Cette dernière peut donc exister sous différents états comme le montre le **document 10**.

Q19-Expliquer l'effet de la protéine CbbX sur la Rubisco inhibée (E.I)

Q20-Préciser les conditions qui permettent à la Rubisco inactive (E) de passer sous forme active (E.C.M).

Des études cinétiques de fixation du CO₂ par les différentes formes de Rubisco ont été effectuées. Les résultats sont présentés sur le **document 10B**.

Q21-Analyser les résultats obtenus pour les complexe E.C.M puis E.I en l'absence de CbbX.

Q22-Comparer les résultats obtenus pour le complexe E.I en présence de CbbX avec ou sans ATP.

Q23-Évaluer les vitesses de réaction de fixation du CO₂, en nmol·s⁻¹, entre 100 et 300 secondes, pour E.I en présence des différentes concentrations de CbbX et d'ATP.

Q24-En déduire les conditions optimales de fonctionnement de la Rubisco.

Pour préciser les conditions optimales de fonctionnement de CbbX, son activité ATPase a été évaluée par la vitesse de réaction en présence de différentes concentrations en RuBP. Les résultats obtenus sont présentés sous forme d'une courbe dans le **document 11**.

Q25-Analyser la courbe du **document 11** pour conclure sur l'influence de la concentration en RuBP sur l'activité ATPase de CbbX.

D'autres expériences ont été réalisées afin de déterminer la structure tridimensionnelle de Cbbx lorsqu'elle est sous sa forme active. Pour cela, des études de microscopie électronique à transmission (MET) dont certains clichés sont présentés dans le **document 12** ont été

mises en œuvre. Ces recherches ont montré que CbbX purifiée forme des assemblages de différentes tailles.

Q26-Rappeler la signification de « oligomérique » puis **analyser** les images obtenues de la structure de CbbX :

- en présence d'ATP seul ;
- en présence d'ATP et de RuBP.

Q27-En déduire la structure de CbbX 100% active.

Q28-Conclure sur l'importance de la protéine CbbX dans l'activation de la Rubisco et **discuter** le nom de « Rubisco activase » qui lui est donné.

2.3 Étude de l'expression du gène de CbbX dans des populations de diatomées en fonction des conditions environnementales

Lors de l'expédition Tara Océans, plus de 200 échantillons d'eaux de mer, répartis sur 66 lieux à la surface des océans ont été prélevés.

Pour cette étude, les échantillons ont été séparés en quatre fractions dont les organismes sont de tailles différentes : de 0,8 à 5 μm , de 5 à 20 μm , de 20 à 180 μm et de 180 à 2 000 μm . Des diatomées de tailles différentes sont présentes dans chacune de ces fractions.

L'ensemble des ARN issus de la transcription des génomes des différentes espèces présentes dans chaque fraction est appelé métatranscriptome.

Afin de connaître les conditions dans lesquelles le gène de CbbX est exprimé chez les diatomées, les métatranscriptomes sont analysés. Les résultats sont présentés **document 13**.

Q29-Identifier la fraction pour laquelle il existe une corrélation positive entre la pCO_2 et l'expression de CbbX.

Q30-Identifier un paramètre pour lequel il existe une forte corrélation négative avec l'expression de CbbX.

Q31-Déterminer l'influence pour les diatomées de petites tailles d'une diminution du pH sur l'expression du gène de CbbX.

2.4 Bilan

Q32-À l'aide des informations obtenues dans la partie 2, **proposer un argumentaire**, sous la forme d'un texte, d'un schéma ou d'une carte mentale, pour illustrer un moyen industriel qui pourrait être développé en utilisant les diatomées pour capter l'excès de carbone émis dans l'atmosphère par l'activité humaine.

Partie 3 - Des innovations biotechnologiques venues des océans au service de la santé

Entre 2016 et 2018, l'expédition Tara Pacifique a parcouru les côtes de l'océan pacifique pour étudier les récifs coralliens avec plusieurs objectifs de recherche :

- étude de la biodiversité de ces récifs ;
- exploration des possibilités d'adaptation de ces récifs face au changement climatique ;
- recherche de nouvelles molécules issues des écosystèmes coralliens pour développer des applications en santé humaine.

En effet, plusieurs traitements anti-cancéreux sont issus de molécules naturelles marines découvertes grâce aux multiples explorations des océans. Ainsi, l'halichondrine B, molécule produite par une éponge de mer *Halichondria okadai* et découverte sur les côtes japonaise, présente un potentiel anti-tumoral intéressant.

L'éponge de mer : un animal à la fois simple et compliqué

Les éponges de mer sont l'un des organismes vivants multicellulaires les plus simples au monde.

Elles n'ont ni système nerveux central, ni système digestif, ni système circulatoire... et elles n'ont pas d'organes.

Les scientifiques ont identifié environ 8 500 espèces, mais on estime que l'océan en abrite plus de 25 000.

Elles poussent dans tous les climats marins, des eaux tropicales aux eaux polaires, et survivent sous toutes les latitudes.

Les scientifiques n'ont commencé que récemment à étudier la fonction des éponges et leur contribution au cycle des éléments nutritifs, ainsi qu'à examiner la façon dont elles améliorent la diversité d'autres types d'animaux. Jusqu'à maintenant, notre compréhension de ces animaux se limite à certaines espèces principales.



Halichondria okadai Lieu : Koajiro Arahama, Misaki-cho, ville de Miura, Kanagawa ; Date : 29 avril 2010 ; Photographe : Masahiro Suzuki

©Masahiro Suzuki

Source : adapté de **Pêche et Océan** [site internet], gouvernement du Canada.

Disponible sur <https://www.dfo-mpo.gc.ca/> ; 17 octobre 2018 (consulté le 8 novembre 2022)

3.1 Étude et mise en place de la cancérogénèse

Pour comprendre le mode d'action de l'halichondrine B, il est nécessaire d'étudier préalablement le mécanisme de cancérisation des cellules.

Le cancer est une pathologie multifactorielle causée par un dérèglement du renouvellement des cellules. Le processus d'émergence d'un cancer est schématisé dans le **document 14**

Q33-Décrire les étapes de la cancérisation d'un tissu en employant le vocabulaire adapté.

La protéine p53 intervient dans de nombreux processus de régulation au sein des cellules. Le **document 15** présente certains de ces rôles.

Q34-Analyser le document et **montrer en quoi** p53 occupe un rôle central dans la régulation du cycle cellulaire.

La protéine p53 est mutée dans 40 % à 60 % des cas de cancer.

Q35-Émettre une hypothèse sur l'effet d'une altération de la protéine p53 dans le processus de cancérisation.

3.2 Étude du mécanisme d'action de l'éribuline

L'halichondrine B, qui est produite en faible quantité par les éponges de mer, ne peut pas être obtenue en grande quantité pour une utilisation thérapeutique à grande échelle.

Les chercheurs ont donc créé par synthèse chimique un analogue structural de l'halichondrine, l'éribuline.

Le **document 16** présente les structures de l'éribuline et de l'halichondrine B.

Q36-Expliquer en quoi l'halichondrine B et l'éribuline sont des analogues structuraux.

Q37-Émettre une hypothèse quant à l'intérêt de produire à l'échelle industrielle l'éribuline plutôt que l'halichondrine B.

La division cellulaire ou mitose est régulée par des gènes spécifiques. Leur surexpression ou mutation en oncogènes, à la suite de l'exposition des cellules à un agent cancérigène, entraîne une prolifération incontrôlée des cellules et favorise l'apparition de cancers. Le **document 17** présente les différentes étapes du cycle cellulaire au sein d'une cellule animale.

Q38-Expliquer le rôle essentiel des microtubules constitués de tubuline, au cours des étapes de la mitose.

Le **document 18** présente le mode d'action de l'éribuline.

Q39-Émettre une hypothèse sur un potentiel effet anti-mitotique de l'éribuline.**

3.3 Validation de l'effet de l'éribuline sur la tubuline

Une étude a été réalisée pour mettre en évidence l'effet anti-tumoral de l'éribuline. Cette étude, fondée sur une technique d'immunomarquage décrite dans le **document 19**, permet de mettre en évidence la tubuline dans des cellules en cours de division à la suite d'un traitement à l'éribuline. Les résultats sont présentés dans le **document 20**.

Q40-Réaliser un schéma légendé de l'édifice moléculaire obtenu à la fin de la mise en œuvre de la technique d'immunomarquage de la tubuline.

Q41-Analyser les résultats et **proposer** un mécanisme d'action possible de l'éribuline.

3.4 L'action anti-tumorale de l'éribuline

Le glioblastome est le cancer cérébral le plus fréquent chez l'adulte et l'une des tumeurs malignes humaines les plus dévastatrices pour lesquelles un nouveau traitement efficace est requis de toute urgence. Une étude préclinique a été réalisée afin d'étudier l'efficacité de l'éribuline dans l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales de glioblastome *in vivo*. Une greffe de cellules U87 MG-Fluc2 a été réalisée chez des souris. Les cellules U87 MG-Fluc2 sont des cellules tumorales de glioblastome modifiées. Ces cellules expriment la luciférase, enzyme impliquée dans la bioluminescence, qui oxyde la luciférine en oxyluciférine avec production de lumière. Les résultats sont présentés dans le **document 21**.

Q42-Analyser les résultats et conclure sur l'effet anti-tumoral *in vivo* de l'éribuline.

Q43-Discuter de l'utilisation d'un modèle animal en recherche médicale.

Q44-Rédiger une courte synthèse sur les mécanismes cellulaires et moléculaires par lesquels l'éribuline peut avoir une action anti-tumorale.

Synthèse - One Health Concept

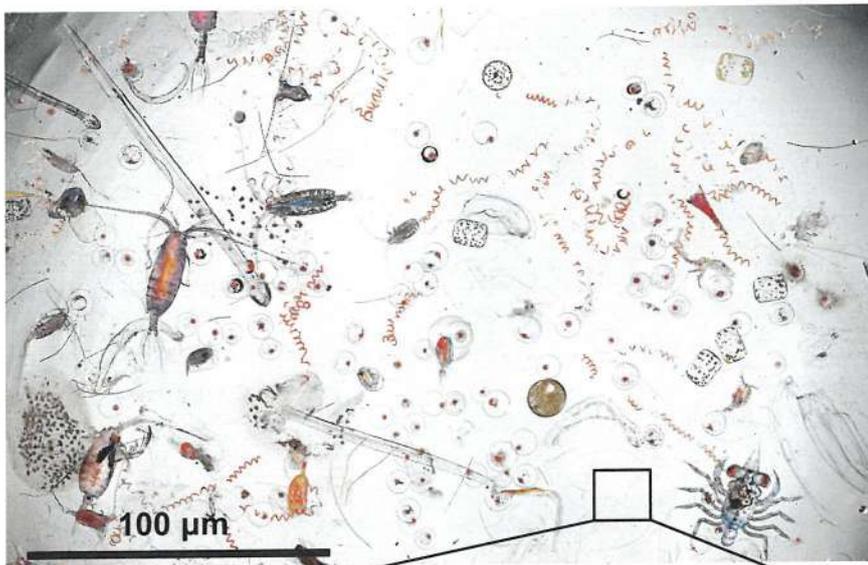
L'océan, formidable réservoir de biodiversité, recèle un énorme potentiel de fonctions génétiques à découvrir. L'utilisation des technologies de pointe comme la métagénomique apporte une compréhension de plus en plus fine de cette biodiversité. Le catalogue de séquences génétiques obtenues par séquençage haut-débit des prélèvements renferme de très nombreux gènes jusqu'ici inconnus ouvrant de multiples pistes d'intérêt sur les plans écologiques, industriels ou thérapeutiques. La mission Tara Océan révèle ainsi l'importance majeure de la biodiversité à l'échelle de la planète.

Le **document 22** évoque le « One Health Concept » et la prise de conscience d'une interdépendance entre la santé humaine, la santé animale et la santé environnementale.

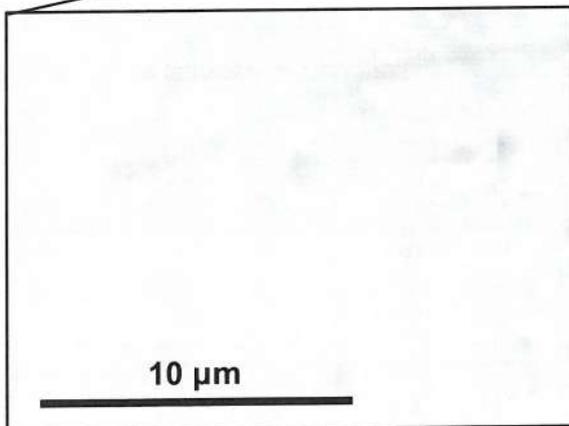
Q45-Montrer comment les biotechnologies peuvent contribuer à répondre aux problématiques liées au concept « One Health » (1/2 page maximum).

Document 1 - Microphotographie d'un échantillon d'eau de mer

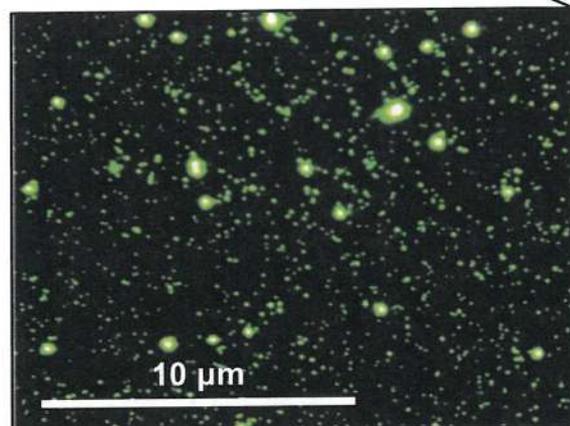
A.



B.



C.



A. Microphotographie (microscope optique à contraste de phase) d'un échantillon d'eau de mer.

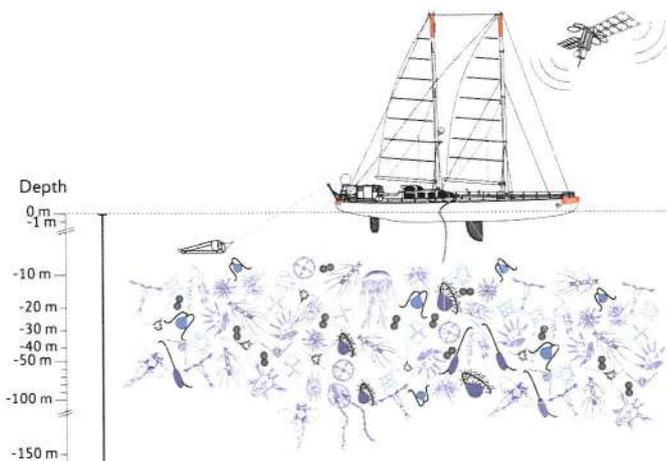
B. Microphotographie (microscope optique à contraste de phase) d'un échantillon d'eau de mer.

C. Microphotographie (microscope à épifluorescence) d'un échantillon d'eau de mer. L'échantillon est traité par un marqueur fluorescent qui se fixe sur les acides nucléiques.

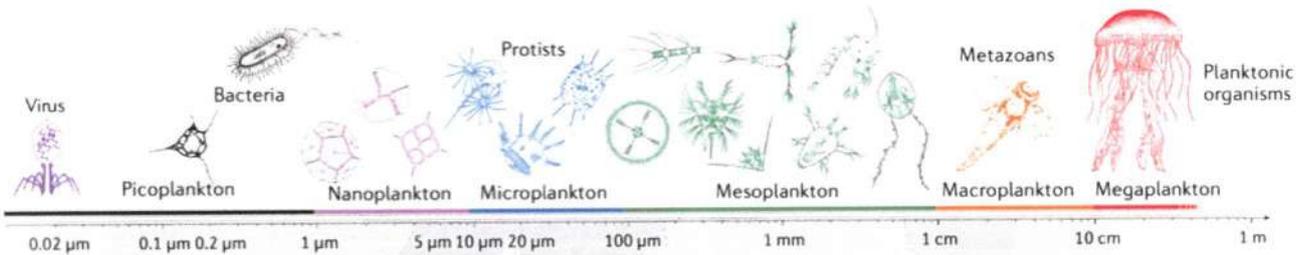
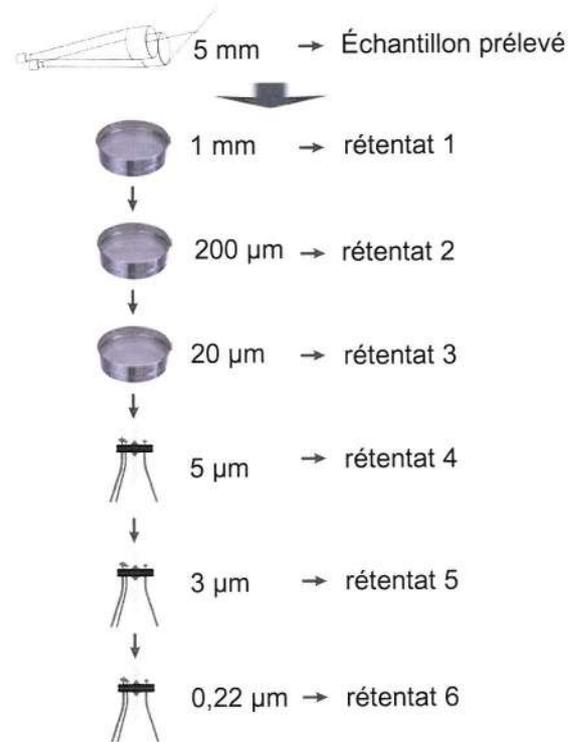
Source : adapté de SUTTLE CA. Viruses: unlocking the greatest biodiversity on Earth. Genome. 2013 Oct;56(10):542-4. doi: 10.1139/gen-2013-0152

Document 2 - Diversité des organismes planctoniques - Du prélèvement à la séparation des échantillons

A.



C.



B.

A. Le prélèvement des échantillons est effectué par des filets dont les mailles ont une taille de 5 mm.

B. Les échantillons prélevés par les filets contiennent des groupes d'organismes de dimension différentes, du virus jusqu'au mégaplancton.

C. Les échantillons récoltés sont ensuite filtrés de façon séquentielle pour séparer les organismes vivants selon leur taille.

Source : adapté de **SUNAGAWA, S., ACINAS, S.G., BORK, P. et al.** *Tara Oceans: towards global ocean ecosystems biology.* *Nat Rev Microbiol* 18, 428–445 (2020). DOI : 10.1038/s41579-020-0364-5

Document 3 - Mise en culture de microorganismes pour l'étude de la biodiversité marine

A- Les milieux de culture utilisables

Milieu 1	
Chlorure de Fer III (FeCl ₃)	0,8 g
Chlorure de Manganèse (MnCl ₂ , 4H ₂ O)	0,4 g
Acide Borique (H ₃ BO ₃)	33,6 g
EDTA sel disodique	45,0 g
Di-Hydrogénophosphate de Sodium (NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O)	20,0 g
Nitrate de Sodium (NaNO ₃)	100,0 g
Solution A	1,0 mL
Solution B	0,1 mL
Solution C	2 mL
H ₂ O qsp 1 L	

Solution A	
Chlorure de Zinc (ZnCl ₂)	2,1 g
Chlorure de Cobalt (CoCl ₂ , 6 H ₂ O)	2,0 g
Molybdate d'Ammonium ((NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ , 4H ₂ O)	0,9 g
Sulfate de Cuivre (CuSO ₄ , 5H ₂ O)	2,0 g
HCl 37%	10,0 mL
H ₂ O qsp 100 mL	

Solution B	
Vitamine B ₁	0,2 g
H ₂ O qsp 200 mL	

Solution C	
Métasilicate de Sodium (Na ₂ SiO ₃ , 5H ₂ O)	40,0 g
H ₂ O qsp 1L	

Milieu 2	
Peptone	10 g
Extrait de cervelle	12,5 g
Extrait de cœur	5 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5 g
Hydrogénophosphate disodique anhydre	2,5 g
Glucose	2 g
Agar	10 g
H ₂ O qsp 1 L	

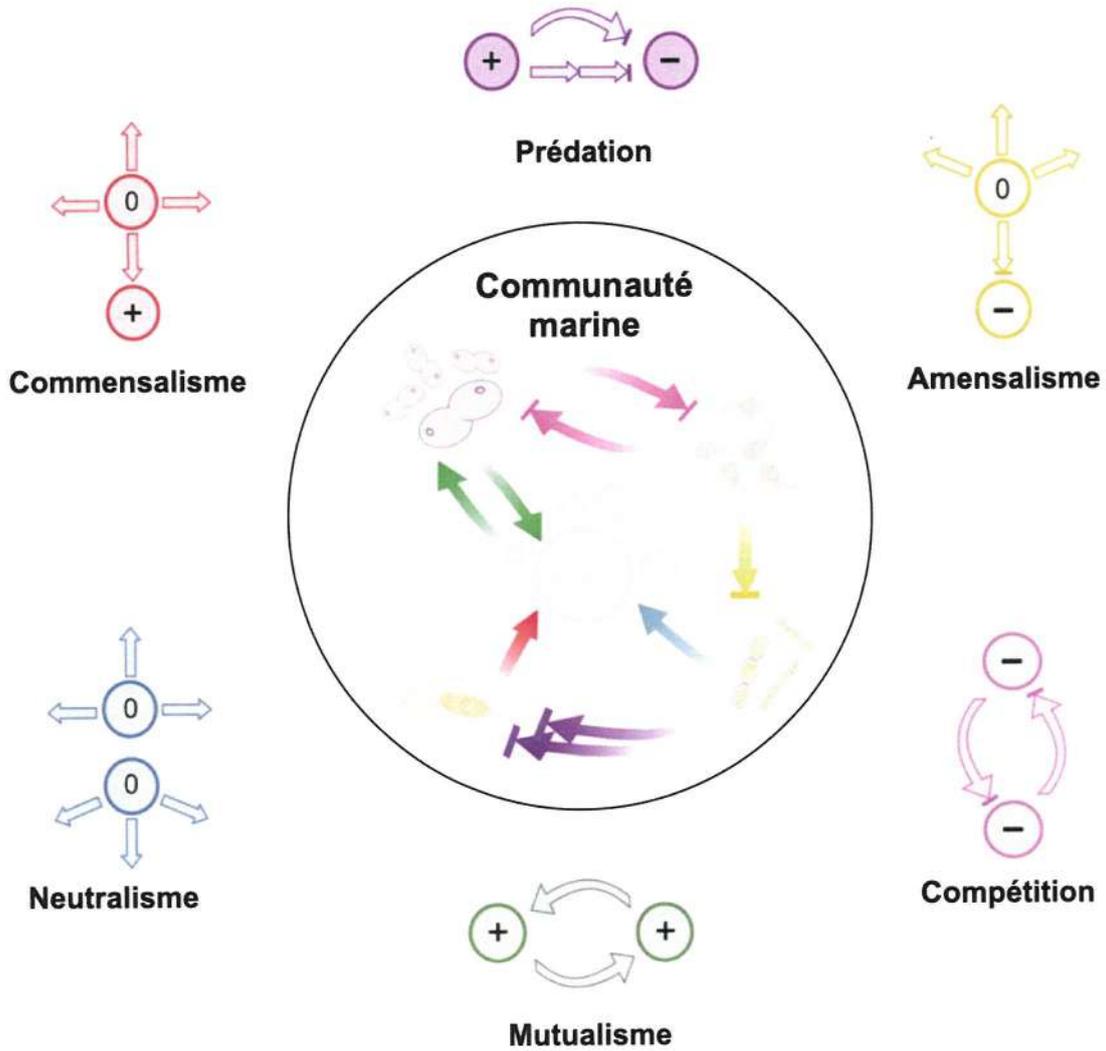
B. Les types trophiques rencontrés chez les microorganismes

		1- Source d'énergie			
		Lumière : « Photo »	Réactions chimiques : « chimio »		
2 Donneur d'électrons	Minéral : « Litho »	Photo-litho- autotrophes	Chimio-litho- autotrophes	Minérale : CO ₂ « Auto »	3 Source de carbone
		Photo-litho- hétérotrophes	Chimio-litho- hétérotrophes	Organique : « hétéro »	
	Organique : « organo »	Photo-organo- autotrophes	?	Minérale : CO ₂ « Auto »	
		Photo-organo- hétérotrophes	Chimio-organo- hétérotrophes	Organique : « hétéro »	

1, 2 et 3 désignent l'ordre à envisager dans la caractérisation d'un type trophique ; ? signifie 'absence de donnée'

Sources : PEYCRU P et al. *Biologie tout-en-un BCPST*, Dunod, 2010

Document 4 - Les interactions au sein des communautés de microorganismes

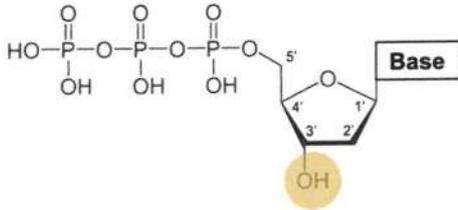


Au sein d'une communauté, les membres de la population peuvent participer à de multiples interactions inter-individus : 0 signifie une interaction sans conséquences, tandis que les symboles + et - témoignent des interactions avec respectivement des conséquences positives et négatives.

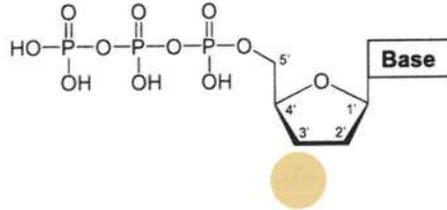
Source : adapté de **ZUÑIGA C, ZARAMELA L, ZENGLER K. Elucidation of complexity and prediction of interactions in microbial communities.** Microb Biotechnol. 2017 Nov;10(6):1500-1522. doi: 10.1111/1751-7915.12855.

Document 5 - Principe du séquençage par la méthode de Sanger

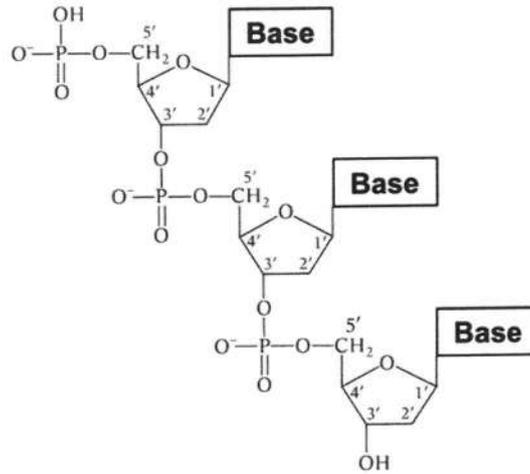
A. Structure d'un désoxyribonucléotide (dNTP)



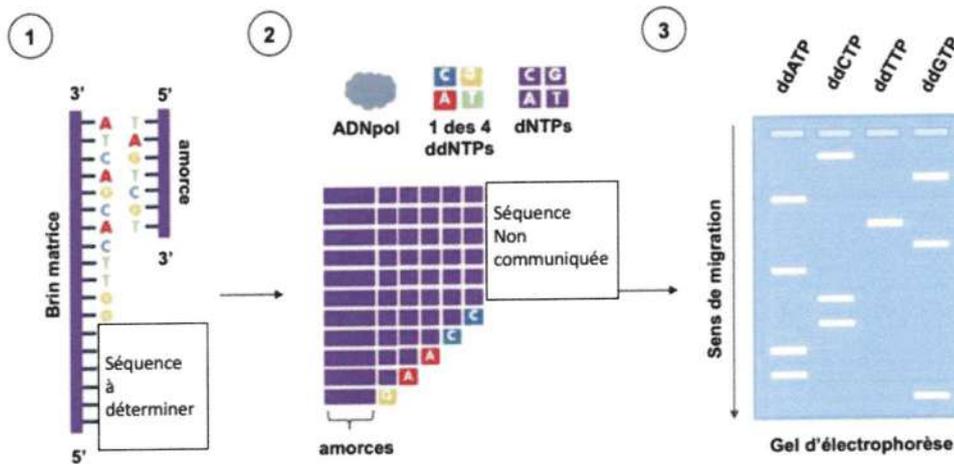
B. Structure d'un didésoxyribonucléotide (ddNTP)



C. Structure des liaisons phosphodiester



D. Schéma du principe du séquençage par la méthode de Sanger



(1) L'ADN à séquencer est tout d'abord amplifié, distribué dans 4 tubes épendorf puis dénaturé pour obtenir des brins matrices simple-brin. Une solution d'amorce spécifique complémentaire est ajoutée dans chaque tube. Chaque molécule d'ADN simple brin à séquencer fixe une molécule d'amorce complémentaire.

(2) Dans chaque tube, une solution comprenant les quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) est ajoutée. Les quatre tubes contiennent également de faibles quantités de l'un des 4 didésoxyribonucléotide ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP marqués. L'élongation de l'amorce est assurée par la présence d'une ADN polymérase. Les brins néosynthétisés de différentes tailles sont représentés sur le document.

(3) Le contenu de chacun des tubes, notés « ddATP », « ddCTP », « ddGTP » ou « ddTTP » en fonction du didésoxyribonucléotide qu'il contient, est ensuite analysé après électrophorèse sur gel, dans des conditions permettant la séparation de molécules différent d'un nucléotide. On obtient ainsi autant de bandes que de nucléotides à identifier.

Donnée : dans les conditions expérimentales, un fragment d'ADN migre d'autant plus loin du puits de dépôt qu'il est de petite taille.

Source : **NGUYEN J, Sanger Sequencing**, 2021, Apollo institute. (site internet) <https://apollo-institute.org/> (consulté le 8 novembre 2022)

Document 6 - Comparison of the Sanger and Illumina® techniques

Features	Sanger	Illumina
Sequence chemistry	Dye-terminator	Synthesis
Amplification approach	PCR	Bridge PCR
Time per run (day)	1	3-12
Read length (bp)	700	50
Reads per run	96	100. 10 ⁶
Mb per run	0.067	5 000
Cost per run (US\$)	350	975-2325
Cost per Mb (US\$)	5224	0.12-0.39

1 run = 1 opération de séquençage

Mb = mégabase = 10⁶ bases

Read length : taille du fragment d'ADN pouvant être séquencé

Reads per run : nombre de séquençages effectués en parallèle sur différents fragments d'ADN

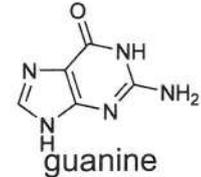
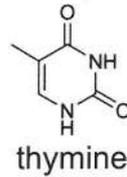
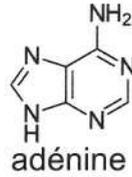
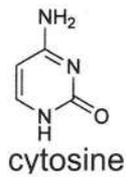
Mb per run : nombre de mégabases identifiées par la réalisation d'un séquençage

Pour ces deux techniques, à l'issue du séquençage des fragments d'ADN, une étape d'alignement des fragments séquencés par bio-informatique permet d'établir la séquence complète d'une molécule d'ADN.

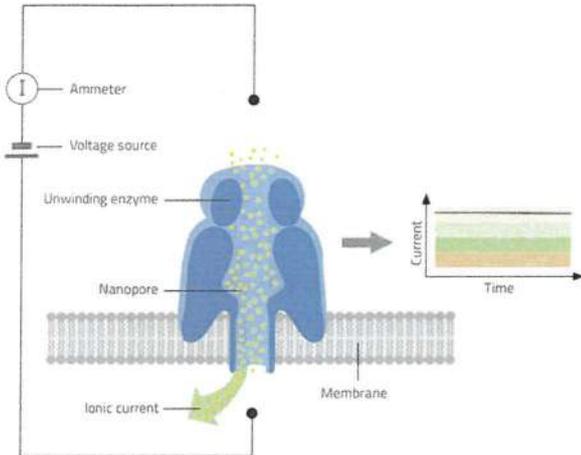
Source : adapté de **ZALAPA J E et al.** (2011). *Using Next-Generation Sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences*. American journal of botany. 99. 193-208. 10.3732/ajb.1100394.

Document 7 - Principe du séquençage Nanopore®

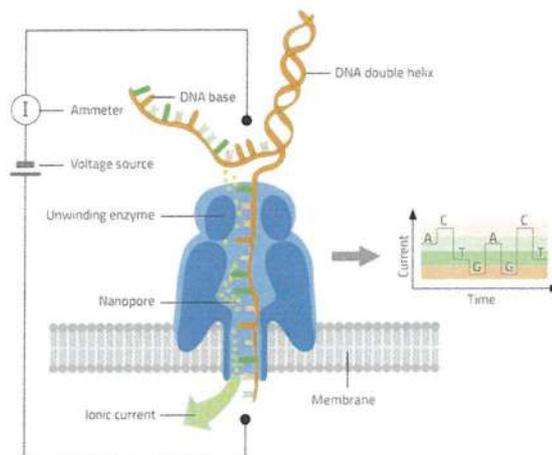
A.



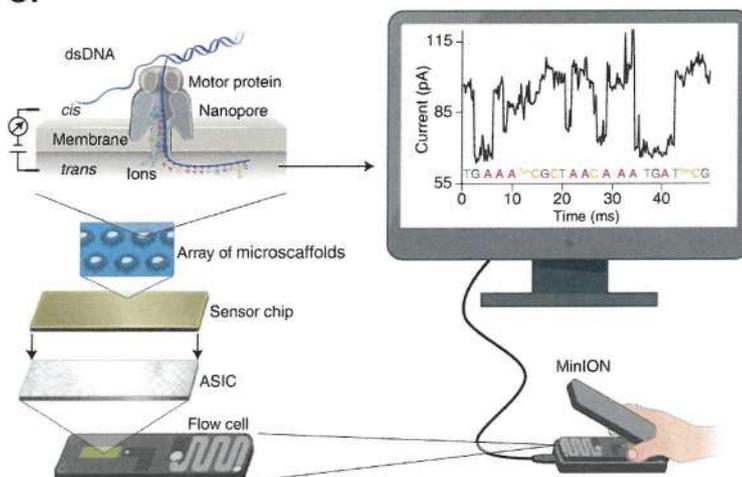
B.1.



B.2.



C.



A. Formule semi-développée des bases azotées.

B. Schéma du principe du séquençage Nanopore®.

(1) Sans ADN, une tension est appliquée et les ions du milieu traversent le nanopore. Le courant induit est mesurable, stable et correspond à une valeur élevée.

(2) L'ADN à séquençer est capté par une enzyme (*unwinding enzyme*) qui dénature l'ADN et fait passer l'un des brins à travers le nanopore. Au niveau d'un étranglement protéique, l'encombrement de la molécule d'ADN réduit le flux d'ions en fonction de l'enchaînement des nucléotides. Les variations du courant ionique mesuré au cours du temps permettent d'établir la séquence de la molécule d'ADN. *Source : adapté de GOPFRICH K et JUDGE K.*

Decoding DNA with a pocket-sized sequencer, Science in school (site internet), disponible sur <https://www.scienceinschool.org> (consulté le 8 novembre 2022)

C. Schéma général du séquençage Nanopore® sur membrane de *Chip*. Le séquençage selon la technique nanopore permet d'établir la séquence de molécules d'ADN de 10 kb à 1000 kb. Le taux d'erreur est relativement important (0,5% après recoupements).

Source : WANG, Y., ZHAO, Y., BOLLAS, A. et al. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. Nat Biotechnol 39, 1348–1365 (2021). DOI : 10.1038

Document 8 - Présentation générale des diatomées

« Je m'appelle DANA. Je suis une diatomée et j'appartiens à la famille des protistes.

Ma maison est une carapace de verre que je construis minutieusement moi-même avec de la silice, un minéral dur que je trouve dans les océans. Grâce à ce squelette externe, je suis capable de vivre en solitaire mais aussi avec des milliers de mes semblables pour former des chaînes. Parfois nous dessinons des éventails, des spirales...

Mon rôle est de capturer l'énergie solaire pour fabriquer l'oxygène qui nous est vital. En fait, je génère près d'un quart de l'oxygène que l'on trouve sur terre.

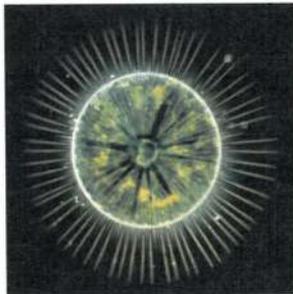
Mes parents sont apparus au Jurassique, il y a quelque 200 millions d'années, fruit de combinaisons chimériques entre les algues et les levures qui peuplaient alors les océans. Depuis, nos formes ont changé, tous comme nos gènes et notre métabolisme. Nous sommes devenues les championnes de la photosynthèse tout en gardant des propriétés de cellules eucaryotes unicellulaires.

Les diatomées sont parmi les photoautotrophes eucaryotes les plus performants et les plus diversifiés.

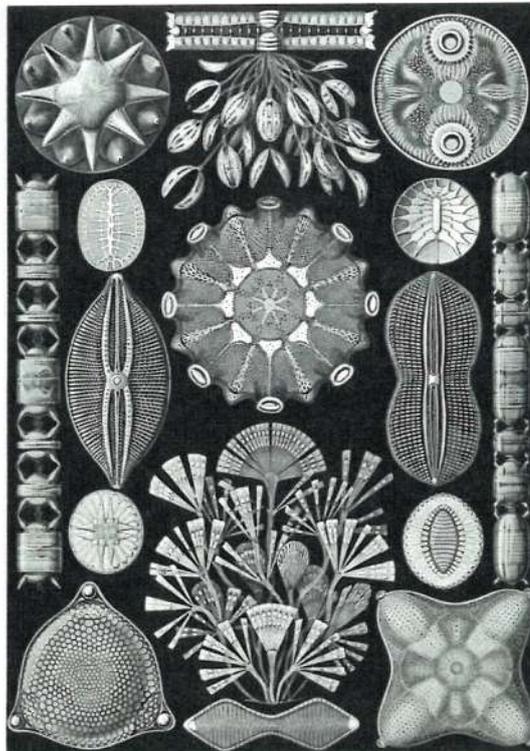
Nous regroupons plus de 100 000 espèces différentes, et c'est ensemble que nous avons réussi à faire grimper le taux de dioxygène sur terre et chuter le dioxyde de carbone de l'atmosphère. »

Source : KARSENTI Eric et DI MEO Dinon, Chronique d'une expédition scientifique, ed. Acte Sud / TARA expédition, 2012

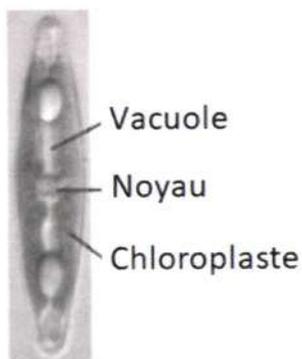
A.



B.



C.



A. Cette diatomée de 200 μm est une algue unicellulaire microscopique du phytoplancton

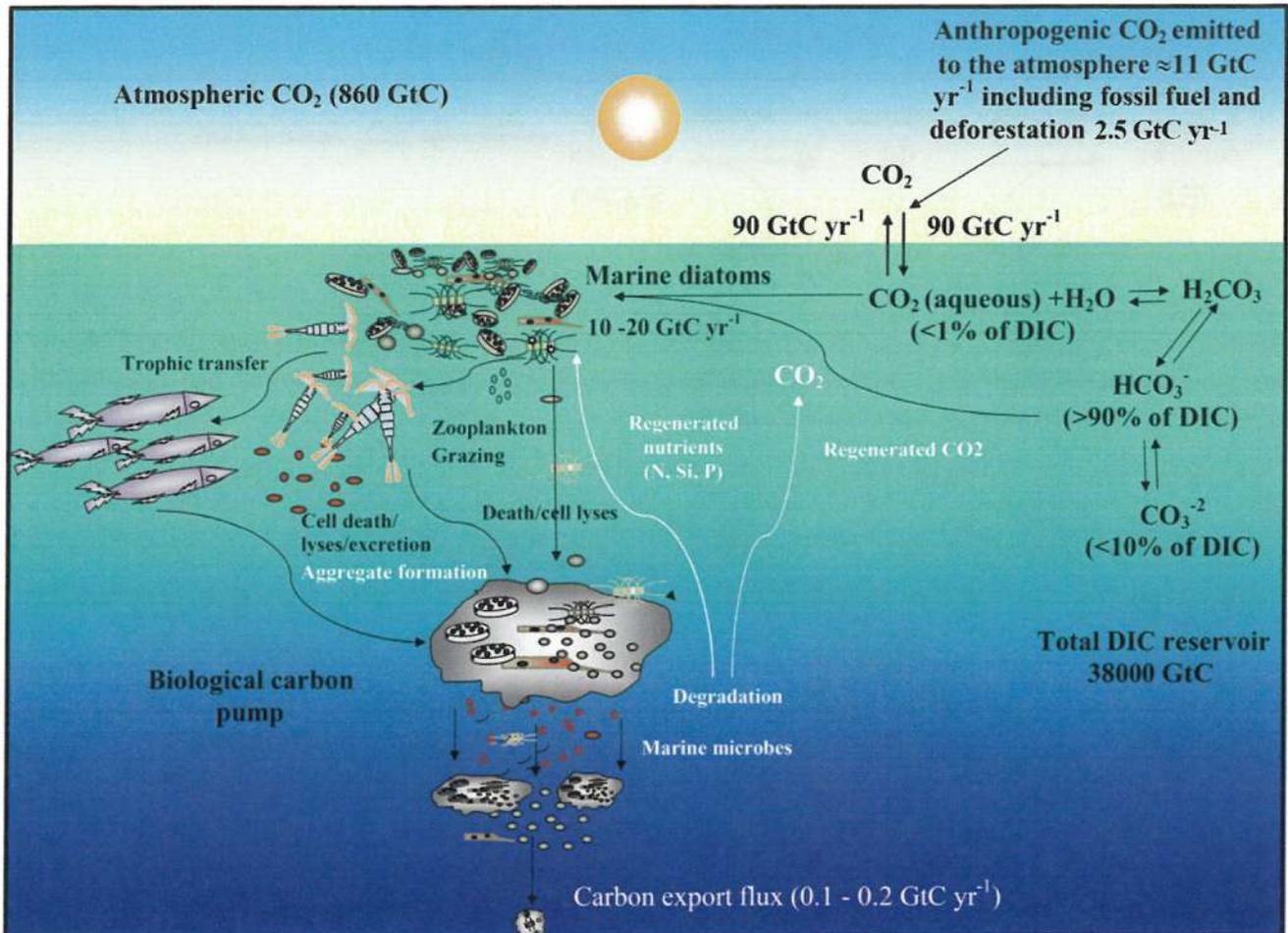
Source : L'océan, puits de carbone à l'avenir incertain INSU (cnrs.fr).

B. Illustration de la diversité des diatomées *Source : dessin de Haeckel 1899.*

C. Ultrastructure de la diatomée *Navicula lancerolata* en microscopie électronique.

Source : Les diatomées, bio-indicatrices de la qualité des cours d'eau (ENS Lyon)

Document 9 - Représentation schématique du cycle du carbone dans les océans

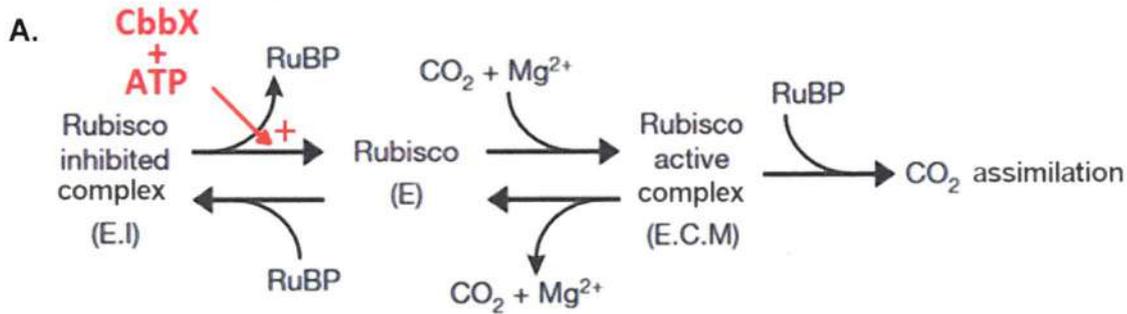


GtC : Gigatonnes de carbone
 GtC yr⁻¹ : Gigatonnes de carbone par an
 Anthropogenic CO₂ : CO₂ d'origine humaine

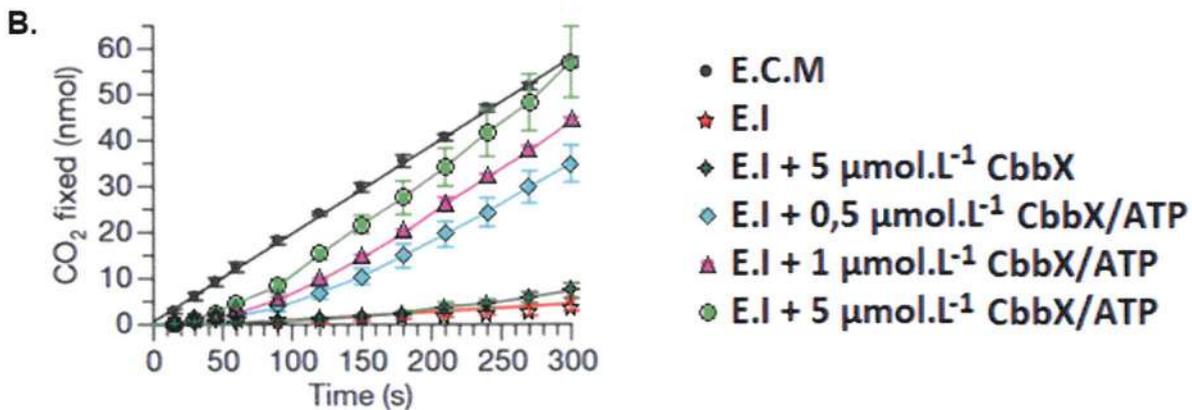
Diatoms : diatomées
 Pump : pompe
 DIC : carbone inorganique (minéral) dissout

Source : adapté de PIERELLA KARLUSICH JJ, BOWLER C, BISWAS H. Carbon Dioxide Concentration Mechanisms in Natural Populations of Marine Diatoms: Insights From Tara Oceans. Front Plant Sci. 2021 Apr 30;12:657821. doi: 10.3389/fpls.2021.657821

Document 10 - La protéine CbbX - une « activase » de la Rubisco



Représentation schématique de l'activation et de l'inhibition de la Rubisco. Sous sa forme inactive (E) la Rubisco peut se lier au RuBP pour former un complexe inhibé (E.I) ou bien fixer du CO₂ et de Mg²⁺ pour former un complexe actif (E.C.M). L'inhibition du complexe (E.I) est levée par la fixation de la protéine Cbbx.

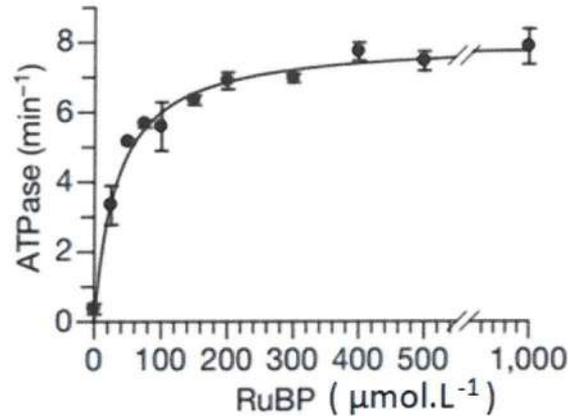


Fixation du CO₂ :

- par le complexe activé E.C.M. ;
- par le complexe inhibé E.I. :
 - en absence ou en présence de CbbX à différentes concentrations,
 - avec ou sans ATP à 4 mmol.L⁻¹.

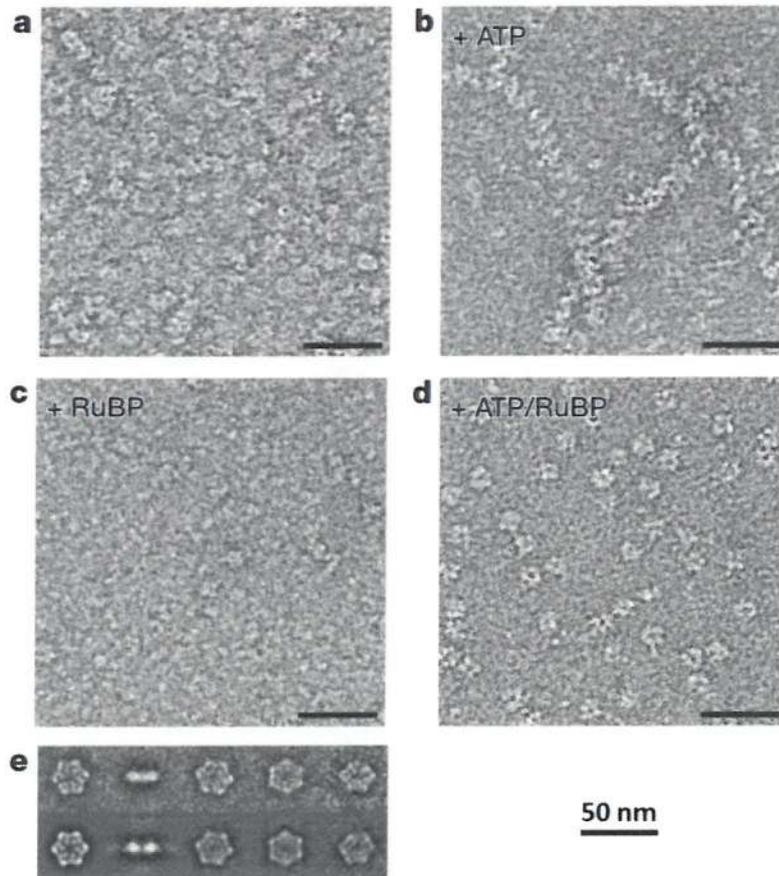
Source : adapté de **MUELLER-CAJAR, O., STOTZ, M., WENDLER, P. et al.** Structure and function of the AAA+ protein CbbX, a red-type Rubisco activase. *Nature* 479, 194–199 (2011). DOI : 10.1038/nature10568

Document 11 - Influence de la concentration en RuBP sur l'activité ATPase de CbbX



Source : adapté de **MUELLER-CAJAR, O., STOTZ, M., WENDLER, P. et al.** Structure and function of the AAA+ protein CbbX, a red-type Rubisco activase. *Nature* 479, 194–199 (2011). DOI : 10.1038/nature10568

Document 12 - Électronographies montrant l'organisation de CbbX obtenus par microscopie électronique à transmission en coloration négative



a - d. CbbX ($0,1 \text{ mg.ml}^{-1}$) a été incubée pendant 5 min à 25 C° dans le tampon **(a)** ou dans le tampon contenant 1 mmol.L^{-1} Mg ATP **(b)** ou 1 mmol.L^{-1} RuBP **(c)** ou Mg ATP et RuBP **(d)**.

e. Compilation d'images obtenues dans les conditions de l'image **(d)** montrant l'assemblage particulier en structure oligomérique de CbbX.

Source : adapté de **MUELLER-CAJAR, O., STOTZ, M., WENDLER, P. et al.** Structure and function of the AAA+ protein CbbX, a red-type Rubisco activase. *Nature* 479, 194–199 (2011). DOI : 10.1038/nature10568

Document 13 - Corrélations entre différents paramètres physico-chimiques et l'abondance des transcrits de la Rubisco activase ou CbbX

Des corrélations ont été établies entre différents paramètres physico-chimiques et l'expression de CbbX dans les diatomées. Le coefficient de corrélation de Spearman permet de rendre compte de l'influence positive ou négative de chacun de ces paramètres.

Pour chaque fraction contenant des diatomées, on mesure l'influence de chaque paramètre. L'intensité de la couleur traduit l'intensité de la corrélation, qui peut être positive (en violet) ou négative (en rouge). Ainsi, par exemple, dans les prélèvements contenant beaucoup de fer (Fe), l'expression de CbbX est très faible par rapport aux autres prélèvements.

A. utilisation du coefficient de corrélation de Spearman

Le coefficient de corrélation entre deux variables, ou coefficient de Spearman, noté ρ (rho), est une valeur numérique tel que $-1 \leq \rho \leq 1$.

Il donne une mesure de la probabilité qu'une variable augmente quand l'autre augmente (corrélation positive) ou qu'une variable diminue quand l'autre augmente (corrélation négative).

Des valeurs positives de ρ traduisent des corrélations positives. Elles sont représentées par la taille et l'intensité d'un disque de coloration violette.

Des valeurs négatives de ρ traduisent des corrélations négatives. Elles sont représentées par la taille et l'intensité de disque de coloration rouge.

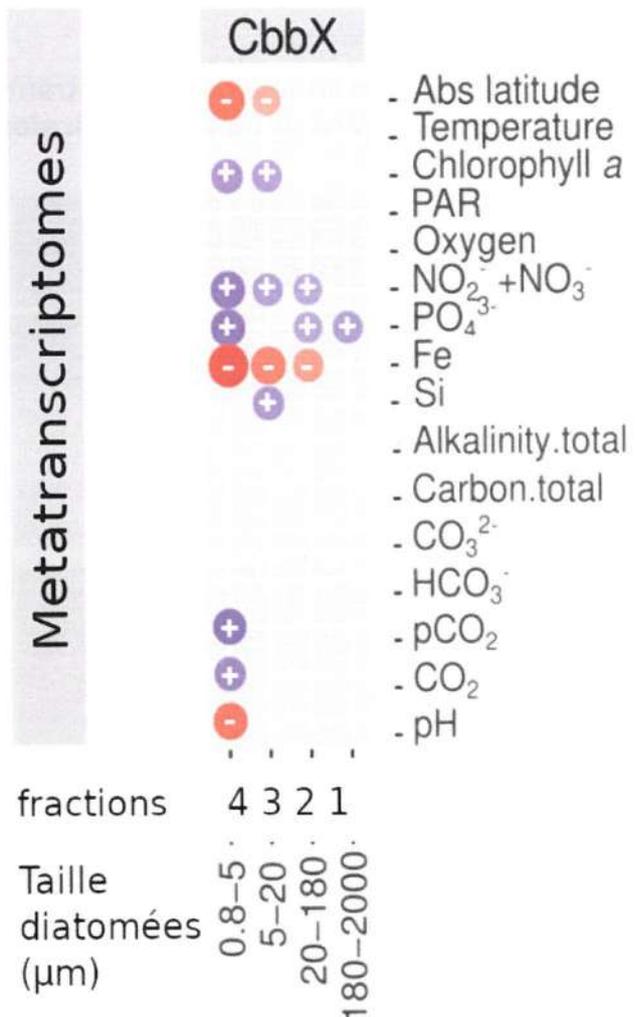
La valeur 0 (absence de disque) indique l'absence de corrélation.

Plus la corrélation est forte, plus ρ est proche de -1 ou 1 , et plus la corrélation est faible, plus il est proche de 0 .

Spearman's rho

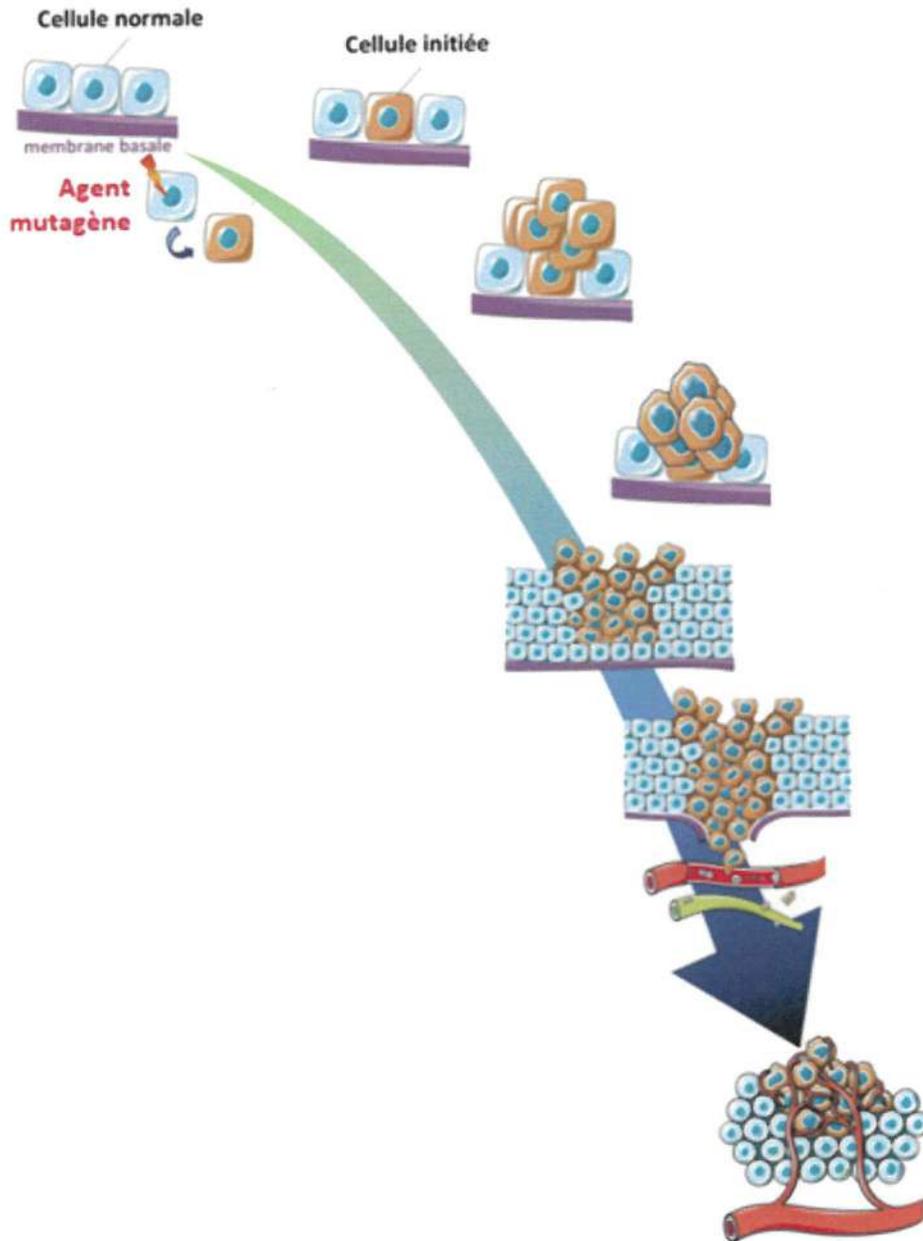


B. Résultats :



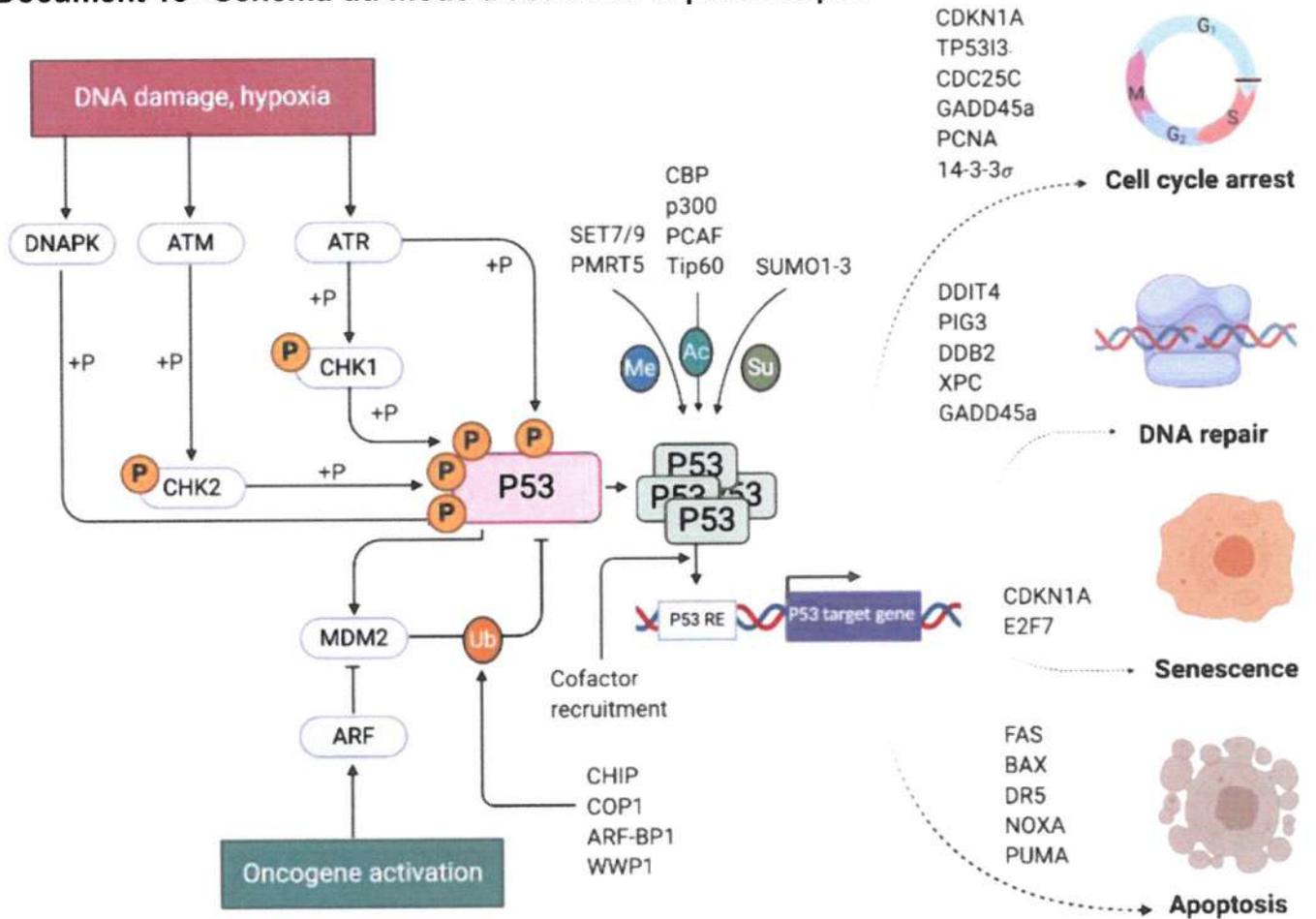
Source : adapté de PIERELLA KARLUSICH JJ, BOWLER C, BISWAS H. Carbon Dioxide Concentration Mechanisms in Natural Populations of Marine Diatoms: Insights From Tara Oceans. Front Plant Sci. 2021 Apr 30;12:657821. doi: 10.3389/fpls.2021.657821

Document 14 - Schéma du processus de cancérisation



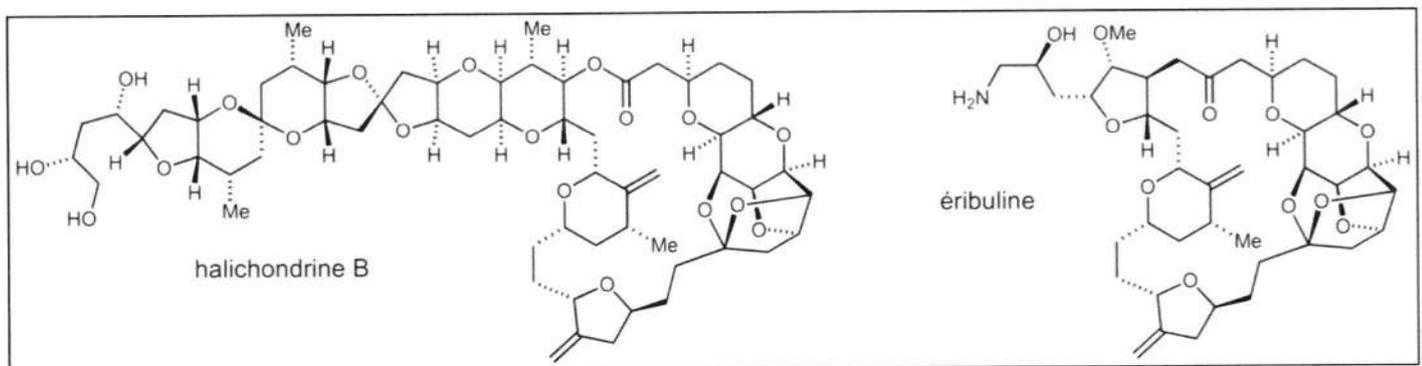
Source : adapté de LEMAIRE J et al., Aspects fondamentaux du développement tumoral, in Bulletin du cancer, Volume 107, n° 11, Novembre 2020, Pages 1148-1160 DOI [10.1016/j.bulcan.2020.08.004](https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2020.08.004)

Document 15 - Schéma du mode d'action de la protéine p53



Source : **HERNÁNDEZ BORRERO LJ, EL-DEIRY WS.** Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2021 Aug; 1876(1): 188556. Published online 2021 Apr 29. doi: [10.1016/j.bbcan.2021.188556](https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2021.188556)

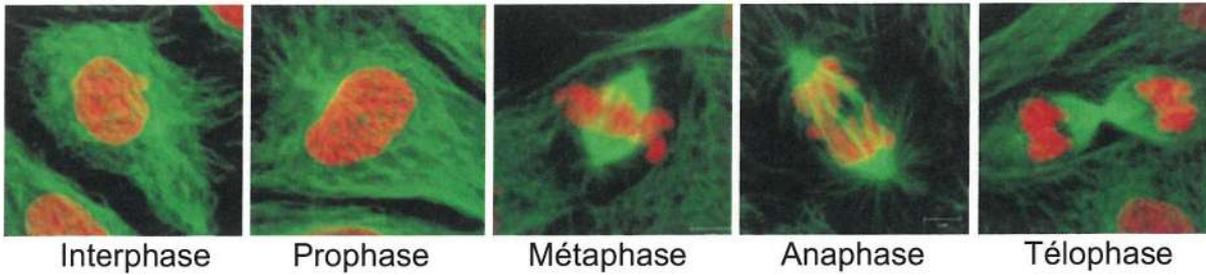
Document 16 - Structure comparative de l'halichondrine B et l'éribuline



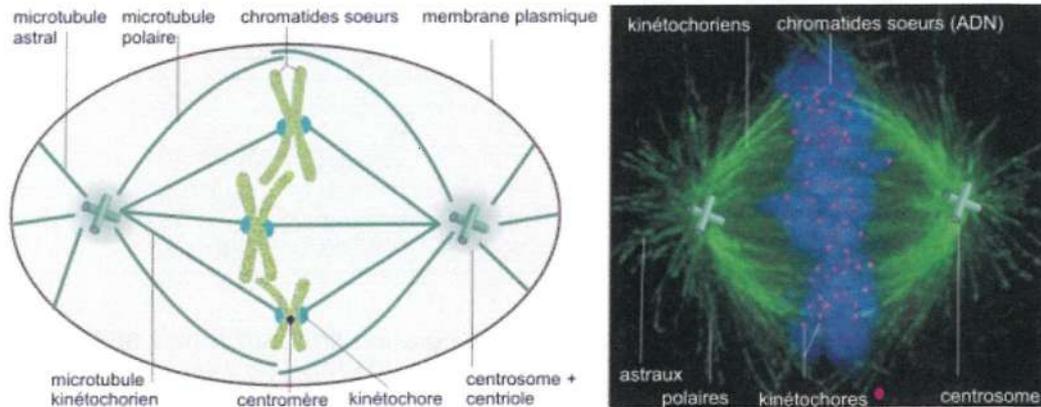
Source : *Dictionnaire de l'académie nationale de pharmacie, (site internet), disponible en ligne sur http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Halichondrine_B (consulté le 8 novembre 2022)*

Document 17 - Rôle des microtubules lors du cycle cellulaire

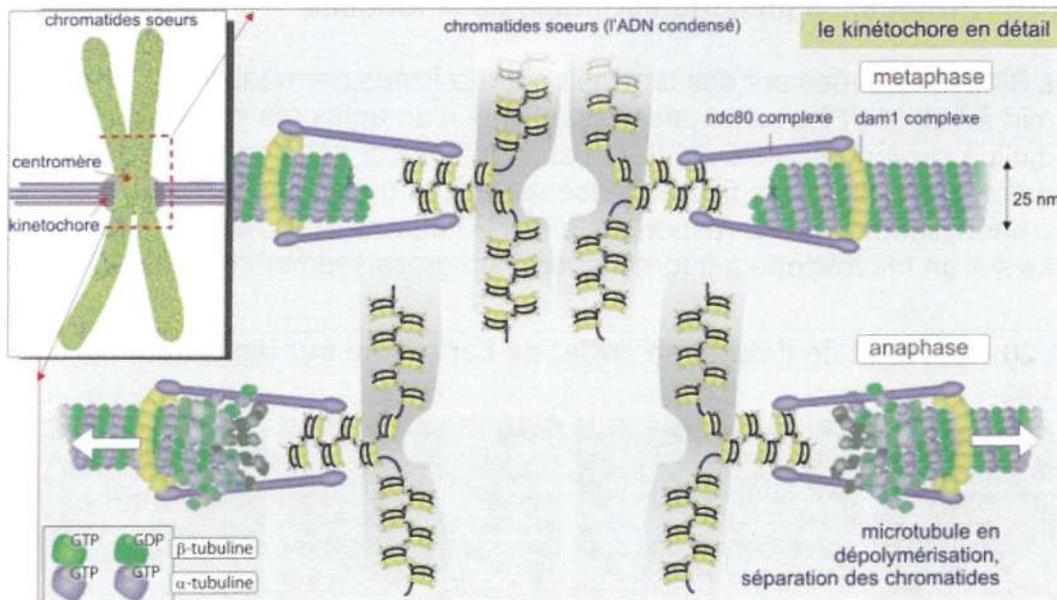
A.



B.



C.



A. Microphotographies de cellules animales à différents stades du cycle cellulaire. Les fuseaux mitotiques sont marqués à l'aide d'un anticorps anti-tubuline couplé à la GFP (Green Fluorescent Protein), fluorochrome vert. Les chromosomes sont marqués à l'aide d'un fluorochrome (m-Cherry) émettant dans le rouge.

Source : La division cellulaire Publié par Adeline Carvalho 2014.

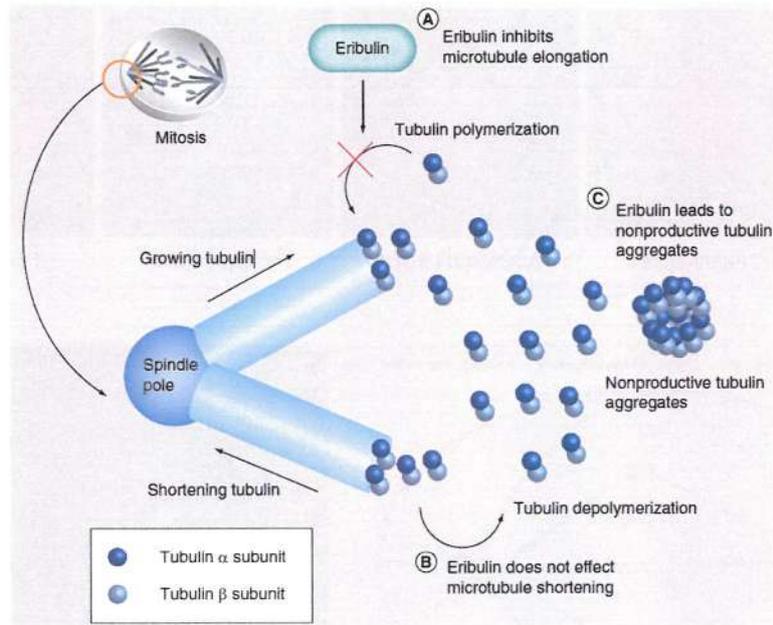
B. Présentation des microtubules du fuseau mitotique.

C. Détail explicatif sur la structure particulière du kinétochore.

Source : KRAMER IJsbrand - Université Bordeaux 1 - FRANCE Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -

Partage des Conditions Initiales à l'Identique (CC) BY-NC-SA disponible sur <https://ressource.unisciel.fr> (consulté le 8 novembre 2022)

Document 18 - Schéma du mécanisme d'action de l'éribuline

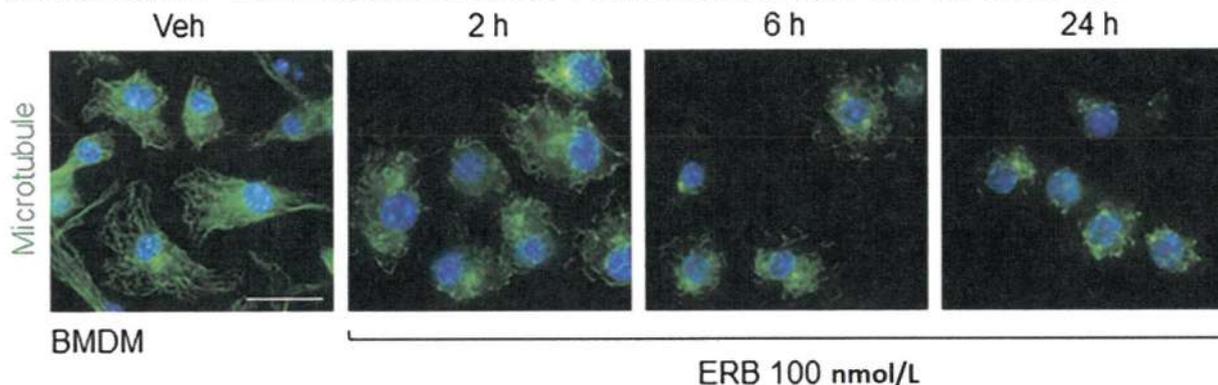


Source : THARA, E., & GITLITZ, B. J.. Eribulin: a new-generation antimicrotubule agent in lung cancer therapy. *Future Oncology* (2014), 10(12), 1913–1924. doi:10.2217/fon.14.155

Document 19 - Protocole d'immunomarquage de la tubuline

Les cellules BMDM cultivées sur des lamelles ont été fixées, perméabilisées à l'aide de méthanol froid à 100 % et immunomarquées à l'aide d'un anticorps primaire de souris dirigé contre la tubuline sur lequel a été ajouté un anticorps secondaire couplé au FITC, un fluorochrome responsable d'une fluorescence verte. Les noyaux sont marqués par le 4',6-diamidino-2-phénylindole (DAPI) responsable d'une fluorescence bleue. Les échantillons ont été observés sur un microscope à fluorescence à un grossissement total de 1000 \times .

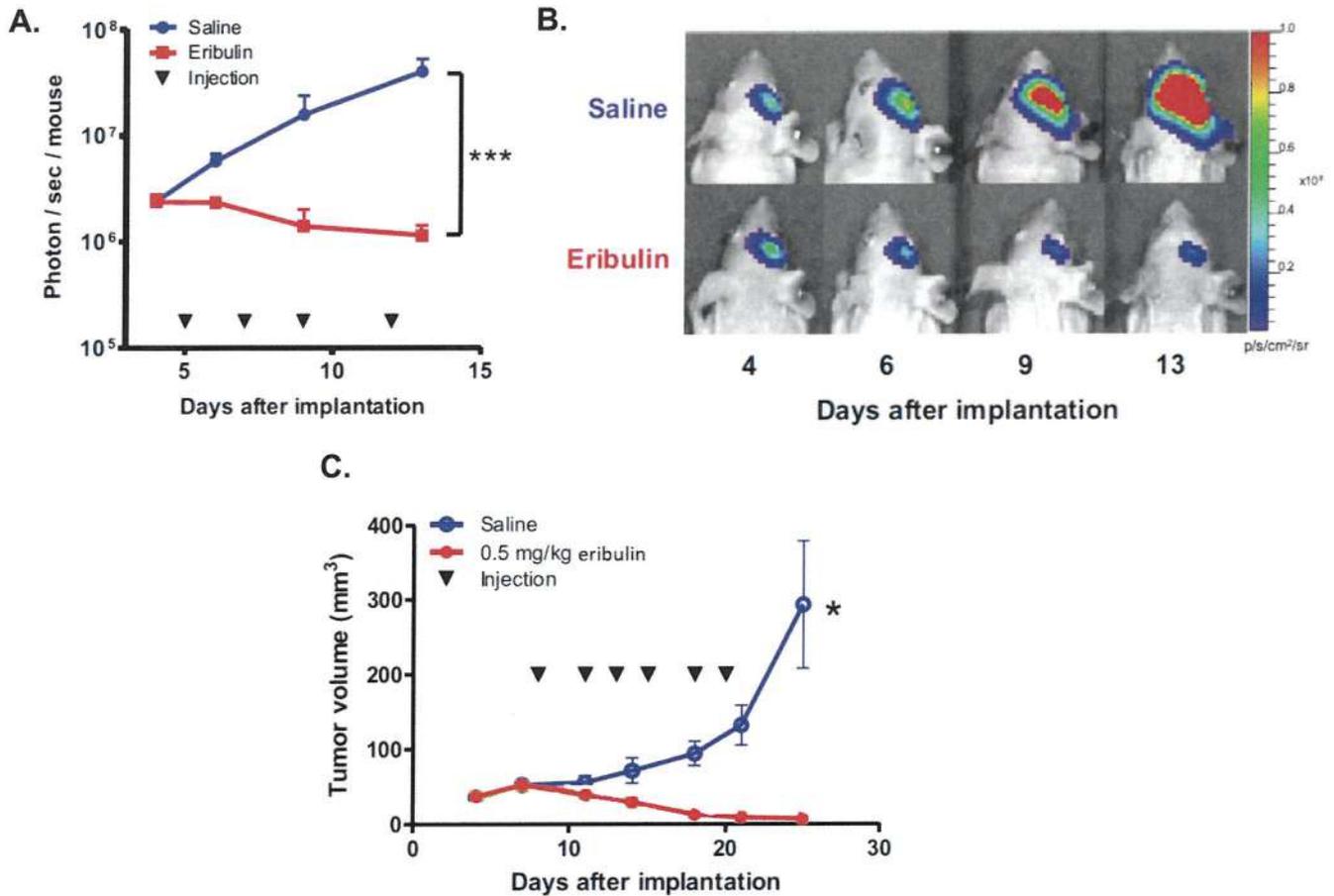
Document 20 - Résultat de l'étude de l'effet de l'éribuline sur les tubulines



Images d'immunofluorescence de microtubules (vert) et d'ADN (bleu) dans des cellules BMDM traitées avec 100 nM d'éribuline (ERB) pendant 2, 6 ou 24 heures par rapport au DMSO (Veh). Barre d'échelle, 10 μ m.

Source des documents 19 et 20 : FERMAINTT C et al., Eribulin Activates the cGAS-STING Pathway via the Cytoplasmic Accumulation of Mitochondrial DNA in *Molecular pharmacology*, 2021, oct., 100(4): 309-318. Disponible en ligne, 10.1124/molpharm.121.000297 (consulté le 8 novembre 2022)

Document 21 - Étude in vivo de l'effet anti-tumoral de l'éribuline



Des souris auxquelles ont été greffées des cellules U87 MG exprimant la luciférase (U87 MG -Fluc2) ont été soumises à des injections intrapéritonéales de solution saline ou d'éribuline (0,5 mg/kg).

A. Les intensités moyennes du signal lumineux dans chaque groupe ont été mesurées. Elles s'expriment en photons par seconde et par souris.

B. Images représentatives de la bioluminescence produite par les tumeurs cérébrales dans une souris ayant reçu une solution saline et une souris ayant reçu une solution d'éribuline aux jours 4, 6, 9 et 13.

C. Mesure du volume de la tumeur de chaque groupe au cours du temps.

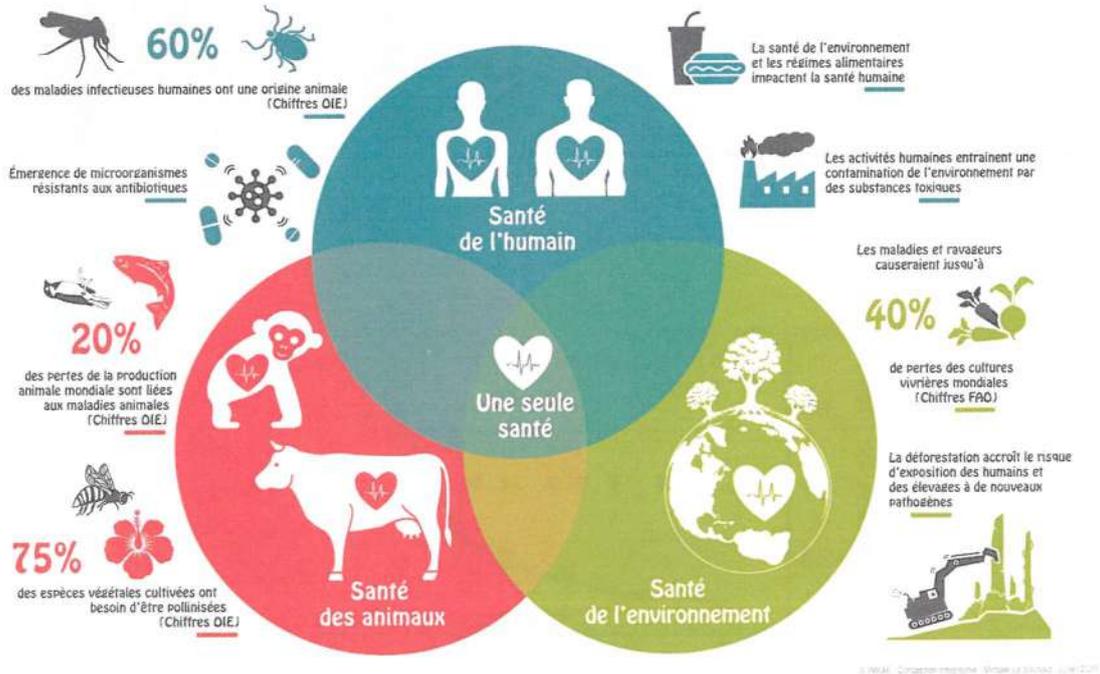
Source :

TAKASHI M, Ichimura K et al., *Eribulin penetrates brain tumor tissue and prolongs survival of mice harboring intracerebral glioblastoma xenografts in **Cancer Science**, 2019, juillet, 110(7): 2247–2257.*

Disponible en ligne, doi: 10.1111/cas.14067 (consulté le 8 novembre 2022)

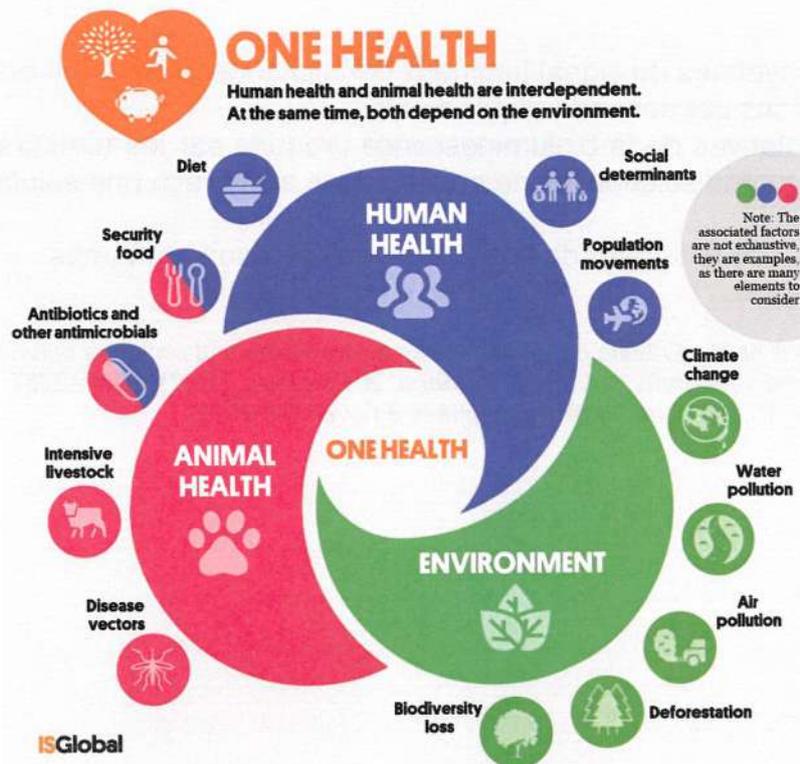
Document 22 - One Health Concept

« Le concept One Health, ou « une seule santé », c'est penser la santé à l'interface entre celle des animaux, de l'être humain et de leur environnement, à l'échelle locale nationale et mondiale. Cette manière d'aborder la santé dans le contexte mondial actuel [...] permet de tenir compte de l'ensemble du système et de trouver des solutions qui répondent à la fois à des enjeux de santé et des enjeux environnementaux. ».



Source :

LE BOURLOUT Michel, *One Health, une seule santé* (texte et infographie), INRAE. Disponible sur <https://www.inrae.fr/>, juillet 2020 (consulté le 8 novembre 2022)



Source : SOTO Sara, *One Health: How to Achieve Optimal Health for People, Animals and Our Planet*, Barcelona Institute of global health. Disponible sur <https://www.isglobal.org/>; 6 avril 2021 (consulté le 8 novembre 2021)