

SVT, EPREUVE SUR SUPPORT DE DOCUMENTS  
BIOLOGIE

Durée : 2 heures

**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 11 pages numérotées de 1 à 11 et une annexe format A3.

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 tétrodoxine

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

. L'**annexe** sera complétée et obligatoirement rendue avec la copie.

. **Le sujet comporte 4 thèmes qui ne sont pas indépendants**. Il est conseillé de traiter les questions dans l'ordre du sujet. Les numéros des questions et des documents étudiés seront clairement indiqués.

- . Aucune introduction, aucune conclusion n'est demandée.
- . L'abréviation "TTX" pour "tétrodoxine" est autorisée.

*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. 'UA' signifie 'unité arbitraire'.*

### Références bibliographiques

HANIFIN *et al.* (2015) *Evolution* **69** (232-244)  
IKEDA K *et al.* (2009) *Toxicon* **53** (99-103)  
ITOI S *et al.* (2018) *Toxicon* **15** (95-100)  
JANG J *et al.* (2006) *Toxicon* **48** (980-987)  
LEE C H *et al.* (2008) *Channels* **2** (407-412)  
NARAHASHI *et al.* (1964) *The Journal of General Physiology* **47** (965-974)  
NOGUCHI T *et al.* (2008) *Marine Drugs* **6** (220-242)  
SAKAKURA Y *et al.* (2017) *Fisheries Science* **83** (191-197)  
TANU M B *et al.* (2002) *Toxicon* **40** (103-106)  
TERLAU H *et al.* (1991) *Febs* **293** (93-96)

## Introduction

Ces **informations importantes** sont à prendre en compte pour répondre aux questions des 4 thèmes.

Les poissons téléostéens de la famille des Tétrodontidés ont la capacité à se gonfler d'eau en cas d'exposition à un danger, ce qui explique qu'ils soient communément appelés « poissons-globes ».

Cette capacité s'accompagne d'adaptations au niveau de la peau, qui est en particulier dépourvue d'écaillés.

Certaines espèces, appartenant en particulier aux genres *Takifugu* et *Tetraodon*, présentent une toxicité pour l'être humain, par contact ou par ingestion. Ils sont ainsi responsables de plusieurs accidents mortels chaque année. Cette toxicité est corrélée à la présence de tétrodotoxine (TTX), dont on se propose ici d'étudier l'origine et le mode d'action.

Les analyses présentées ont été effectuées sur plusieurs espèces de poissons-globes toxiques. Sauf mention contraire, les résultats obtenus peuvent être considérés comme valables pour l'ensemble des espèces étudiées.

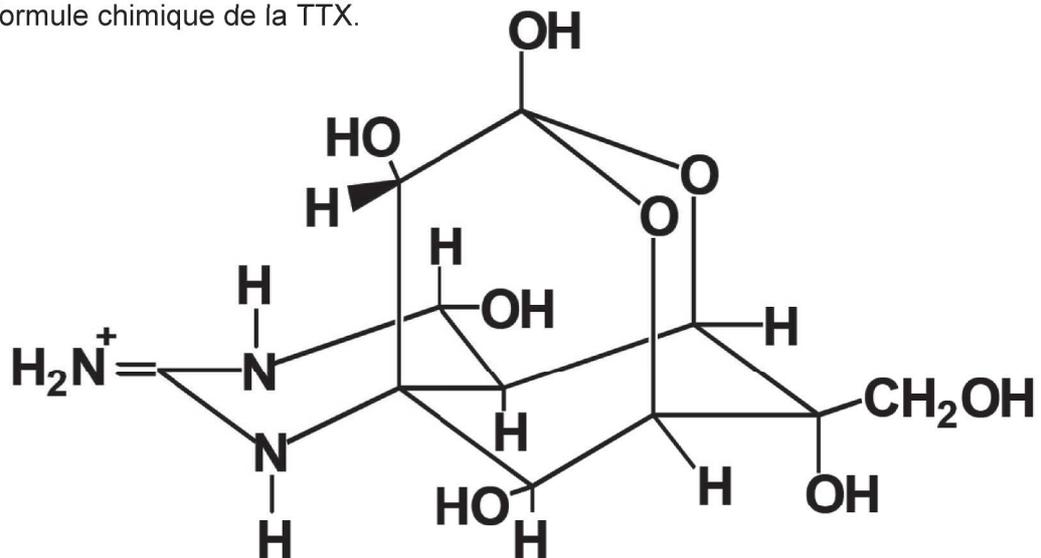
Les poissons-globes juvéniles se nourrissent de plancton (zooplancton surtout). Les adultes se nourrissent de petits animaux (Mollusques, Arthropodes...).



Poisson-globe de l'espèce *Arothron hispidus*, non toxique

## Thème 1 : localisation de la TTX chez les Tétrodontidés

**Document 1** : formule chimique de la TTX.

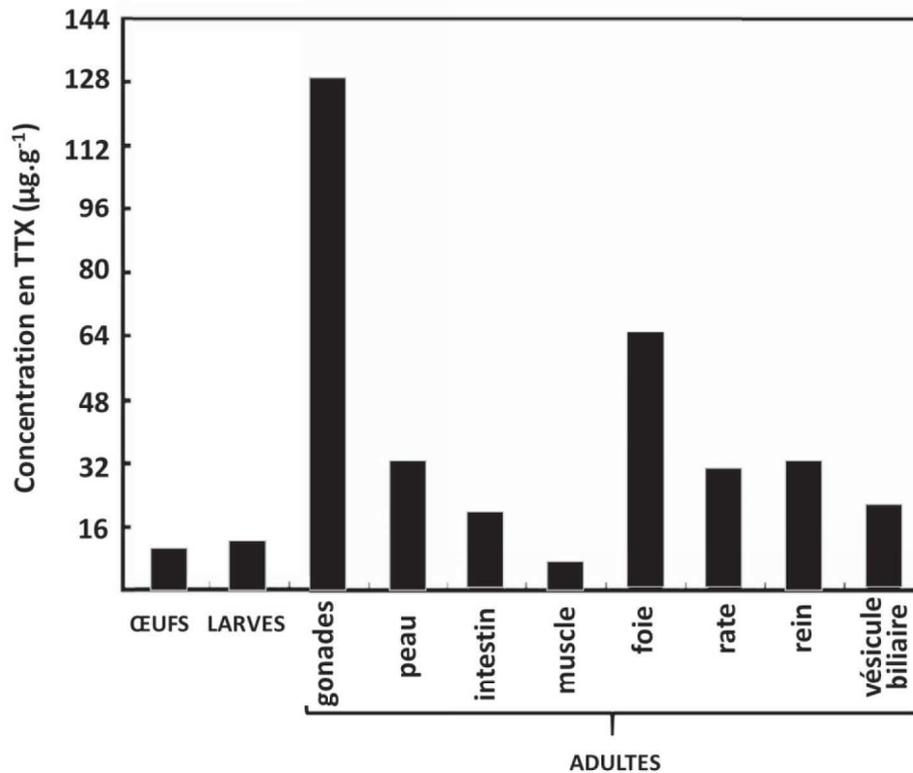


**Question 1.** Annotez la formule de la TTX reproduite dans l'annexe A3, en prenant soin :

- d'identifier clairement 2 fonctions chimiques
- de représenter quelques molécules d'eau en interaction avec la TTX

Aucun texte explicatif n'est attendu, en dehors des annotations et des légendes sur le document 1 de l'annexe A3, à rendre avec la copie.

**Document 2** : concentration en TTX mesurée dans des œufs, des larves et différents organes d'adultes de l'espèce de poisson-globe *Fugu pardalis* (par chromatographie liquide et spectrométrie de masse).



**Question 2.a.** Analysez brièvement les résultats du document 2, et proposez une hypothèse expliquant le rôle biologique que pourrait avoir l'accumulation de TTX dans les gonades des adultes.

**Question 2.b.** Critiquez le document 2, en proposant deux améliorations possibles.

**Question 2.c.** La dose limite de TTX à partir de laquelle un humain adulte peut être intoxiqué par ingestion est de 2 mg.

À partir des résultats du document 2, calculez la masse de chair (muscle) qu'un humain adulte doit consommer pour être intoxiqué.

Sachant que la TTX est par ailleurs détruite en partie par la cuisson, formulez deux hypothèses pour expliquer les intoxications mortelles chez l'être humain.

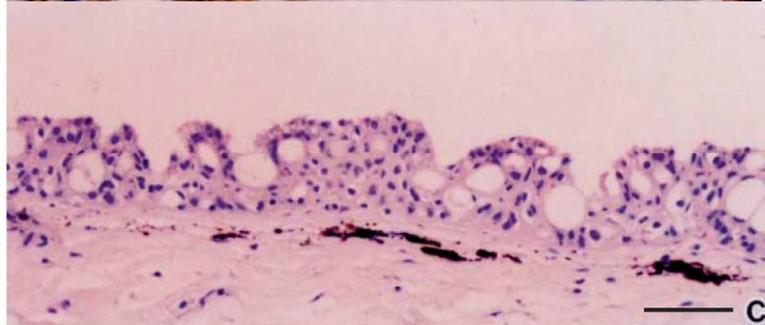
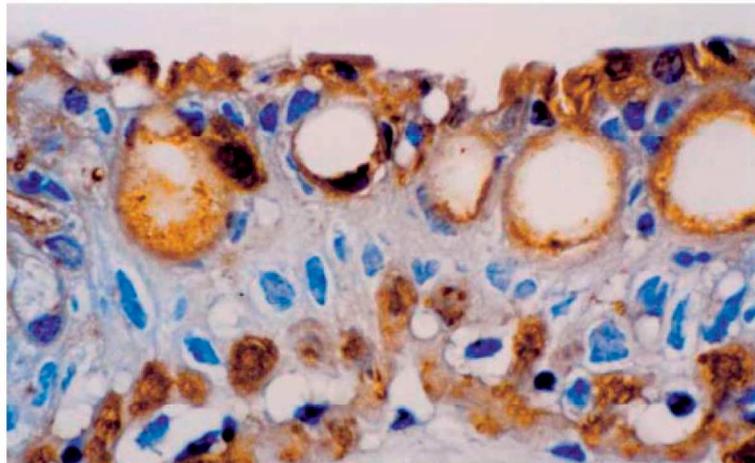
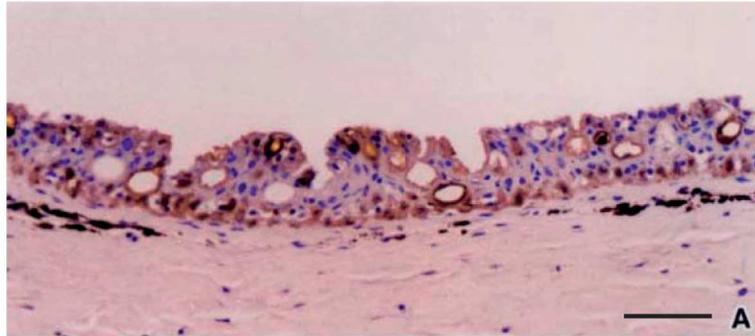
**Document 3** : échantillons de peau d'adultes du poisson-globe *Takifugu rubripes* fixés dans le formaldéhyde puis inclus dans de la paraffine. Des coupes transversales sont ensuite réalisées, puis traitées et observées au microscope optique.

**A** : coupe traitée avec des anticorps anti-TTX, couplés à une enzyme catalysant la formation d'un produit brun.

**B** : détail de la coupe A.

**C** : coupe traitée avec des anticorps anti-protéines de souris, couplés à la même enzyme qu'en A et B.

Barres d'échelle : 500  $\mu\text{m}$  (A et C), 100  $\mu\text{m}$  (B).



**Question 3.** Présentez la localisation de la TTX et **annotez** les documents 3-A et 3-B reproduits dans l'**annexe A3**, à rendre avec la copie.

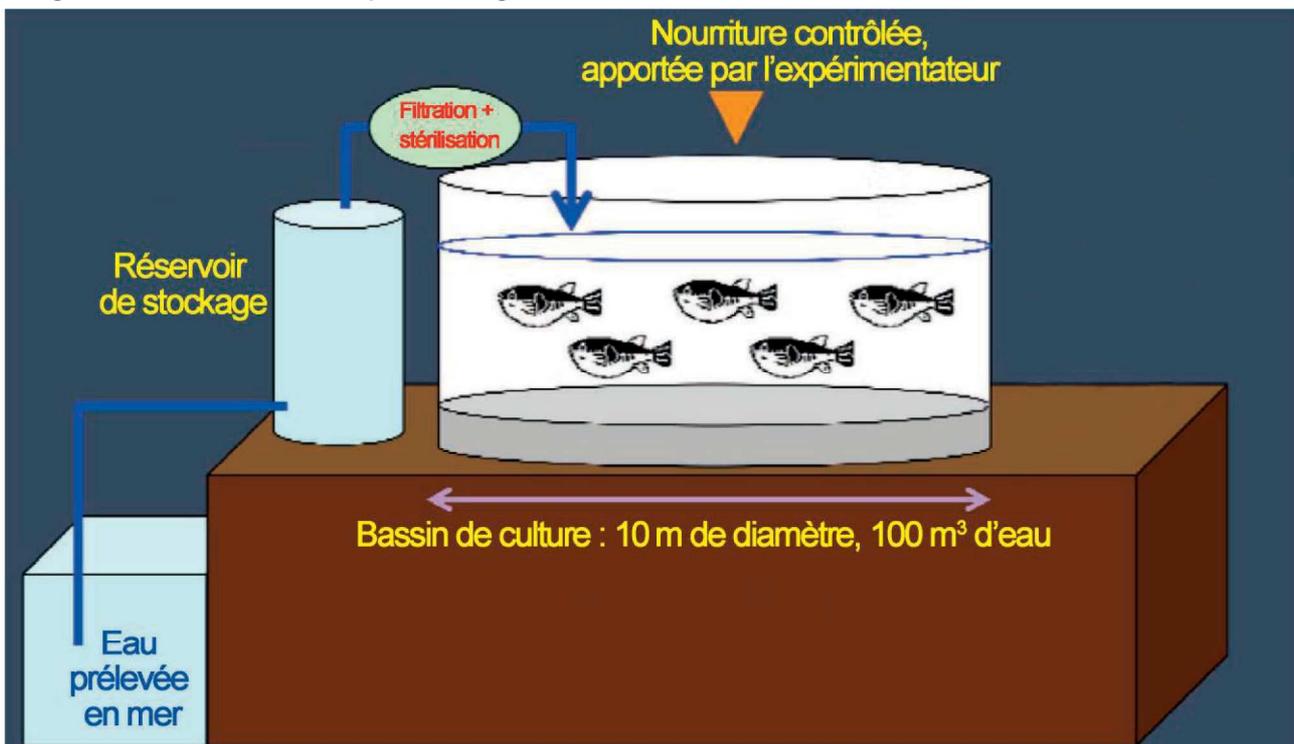
## Thème 2 : origine de la TTX chez les Tétrodontidés

L'origine de la TTX présente chez les poissons-globes a longtemps été discutée, avec deux hypothèses principales :

- hypothèse A = une origine endogène, les poissons-globes produisant eux-mêmes la TTX ;
- hypothèse B = une origine exogène, les poissons-globes ne produisant pas la TTX eux-mêmes, mais étant capables de l'accumuler à partir des aliments ingérés qui en contiennent.

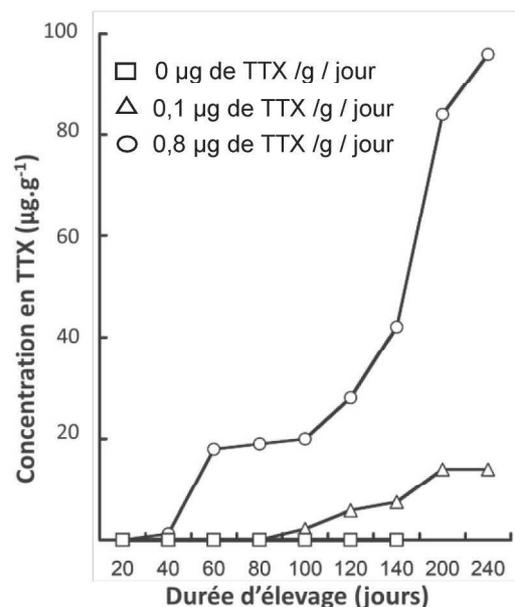
**Document 4** : afin de tester ces hypothèses, des chercheurs japonais ont mis au point un système expérimental permettant d'élever des poissons-globes en captivité. Le système est schématisé ci-dessous.

**Question 4. Discutez** l'intérêt du dispositif expérimental présenté dans le document 4 pour tester l'origine de la TTX chez les poissons-globes.



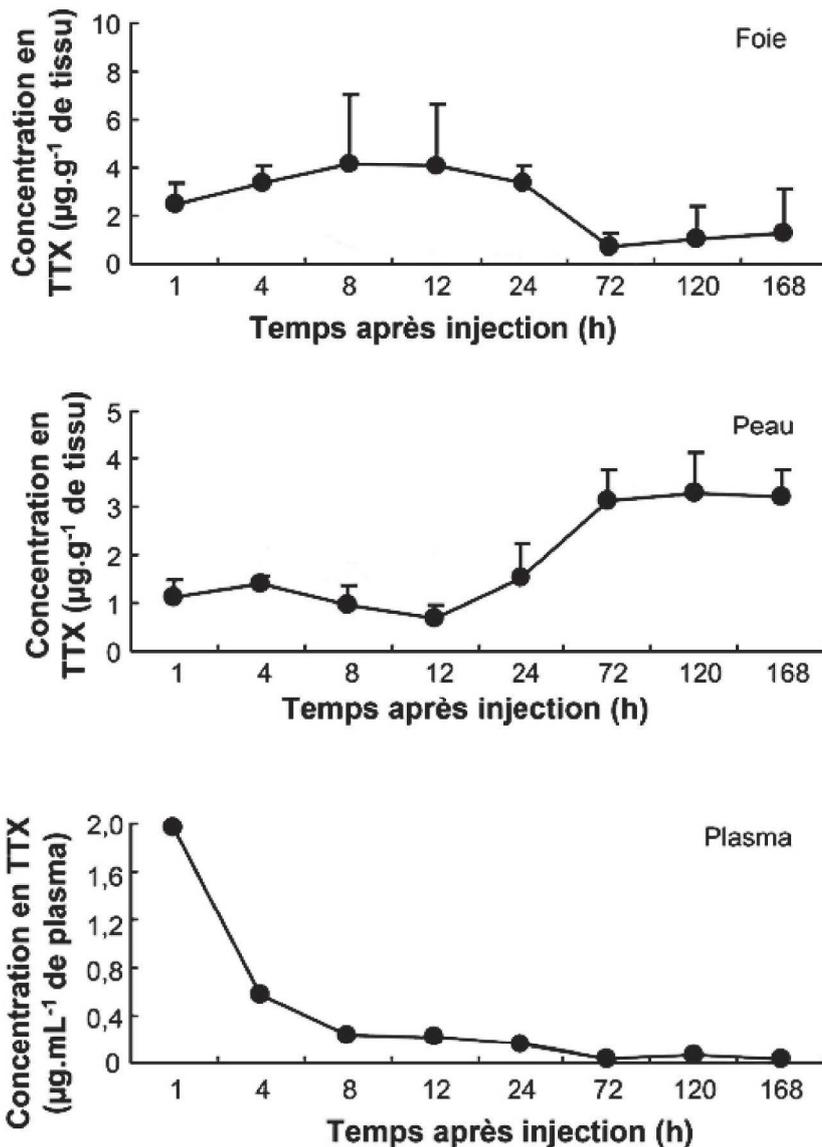
**Document 5** : dans 3 bassins similaires à celui présenté dans le document 4, les chercheurs japonais ont élevé pendant 240 jours des poissons-globes de l'espèce toxique *Takifugu rubripes* en leur fournissant des aliments contenant de la TTX en dose variable. Ils ont régulièrement prélevé des poissons dans chaque bassin, et ont mesuré la concentration en TTX présente dans leur foie (n = 5 poissons par point).

- Expérience 1 (carrés blancs) : apport alimentaire de 0  $\mu\text{g}$  de TTX / g de masse corporelle / jour.
- Expérience 2 (triangles blancs) : apport alimentaire de 0,1  $\mu\text{g}$  de TTX / g de masse corporelle / jour.
- Expérience 3 (ronds blancs) : apport alimentaire de 0,8  $\mu\text{g}$  de TTX / g de masse corporelle / jour.



**Question 5.** Par un raisonnement **argumenté**, utilisez le document 5 pour **discuter la validité des hypothèses A et B** sur l'origine de la TTX présente chez *Takifugu rubripes*.

**Document 6** : chez des poissons-globes élevés dans les conditions de l'expérience 1 du document 5, les chercheurs ont réalisé des injections intra-musculaires de 10  $\mu\text{g}$  de TTX. À intervalles réguliers après l'injection, des poissons sont prélevés et les concentrations en TTX sont mesurées dans le foie, la peau et le plasma sanguin. Les résultats sont présentés ci-dessous, chaque point correspondant à la moyenne de 5 mesures. Pour le plasma, les barres d'erreur ne sont pas présentées car extrêmement réduites.



**Question 6.a.** Dans l'expérience du document 6, **justifiez** l'intérêt d'apporter la TTX par une injection intramusculaire.

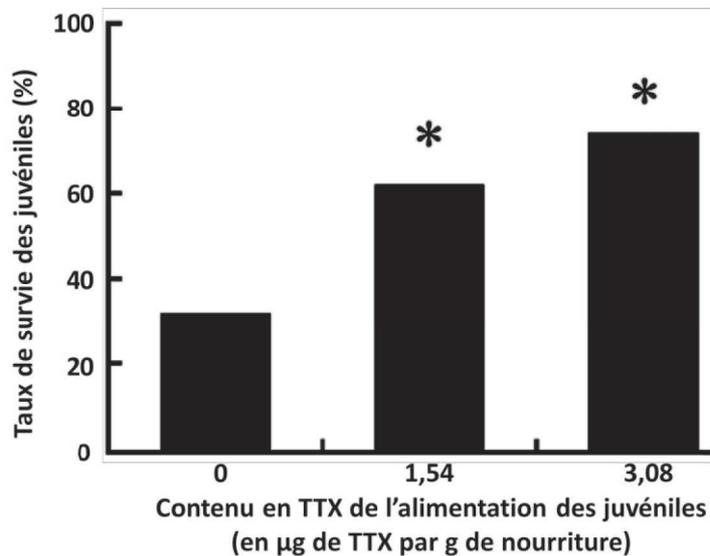
**Question 6.b.** Proposez une **succession d'étapes** permettant d'expliquer les résultats du document 6.

### Thème 3 : fonction et mode d'action de la TTX chez les Tétrodontidés

Dans cette partie, on se propose d'étudier la fonction biologique de la TTX chez les Tétrodontidés et le mécanisme à l'origine de sa toxicité.

L'injection de 20 µg de TTX conduit en 2 h à la mort d'une souris adulte d'environ 20 g. On considérera que les résultats obtenus pour la souris sont transposables au xénope et au homard.

**Document 7** : des juvéniles de poissons-globes sont élevés dans 3 bassins similaires, contenant de l'eau de mer non filtrée riche en phytoplancton et en zooplancton. Chaque groupe (n = 100 juvéniles) est alimenté pendant 10 jours avec une nourriture contenant ou non de la TTX. Après 10 jours, 50 poissons prédateurs (*Lateolabrax japonicus*) sont introduits dans chacun des bassins. Au bout de 5 jours de coexistence, le nombre de juvéniles survivants est compté. Les astérisques indiquent des résultats significativement différents, par rapport à la condition où l'apport alimentaire en TTX est nul.



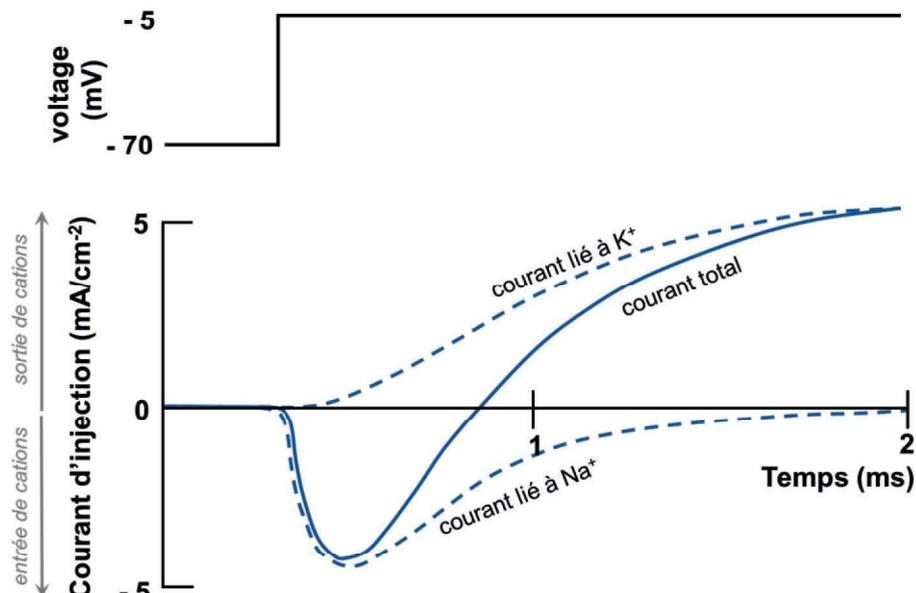
**Question 7.a. Présentez** brièvement les résultats du document 7 et **proposez une hypothèse** expliquant la fonction de la TTX chez les poissons-globes.

**Question 7.b. Identifiez** deux biais expérimentaux qui limitent la portée des résultats du document 7. Justifiez.

**Document 8** : des axones de Xénope ont été étudiés par la méthode du voltage imposé. À  $t = 0,3$  ms, on impose un voltage transmembranaire égal à  $-5$  mV, et on mesure le courant nécessaire pour maintenir le voltage à cette valeur. La figure ci-dessous correspond à une **synthèse** construite à partir des résultats de plusieurs expériences, qui ont permis de **distinguer la part du courant liée aux ions  $\text{Na}^+$  et la part du courant liée aux ions  $\text{K}^+$** .

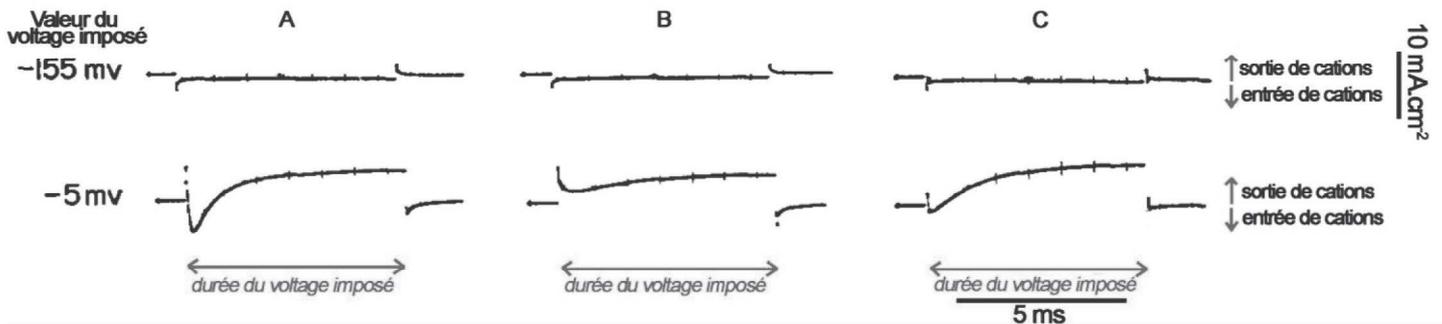
**Question 8.a. Interprétez** les résultats du document 8 en termes de variation de la perméabilité membranaire. **Nommez** le phénomène électrique correspondant à ces variations.

**Question 8.b. Justifier** l'intérêt d'utiliser la méthode du voltage imposé, et le choix d'imposer un voltage de  $-5$  mV.



**Document 9** : des expériences similaires de voltage imposé sont réalisées sur des axones de homard. Les graphiques ci-dessous présentent les **courants globaux** (sans distinction de la part liée à  $\text{Na}^+$  et de la part liée à  $\text{K}^+$ ) mesurés pour différents voltages imposés (-155 et -5 mV) :

- A : en absence de TTX
- B : en présence de TTX à  $30 \text{ ng.mL}^{-1}$
- C : après exposition à la TTX à  $30 \text{ ng.mL}^{-1}$ , puis lavage à l'eau de mer



**Question 9.a.** Identifiez le(s) témoin(s) dans les expériences du document 9.

**Question 9.b.** À partir du document 9, **décrivez** brièvement les effets de la TTX sur les courants transmembranaires d'ions, puis **proposez un mode d'action** permettant d'expliquer la toxicité de la TTX.

**Document 10** : des expériences de mutagenèse dirigée ont été réalisées chez le rat. On obtient ainsi des versions du canal  $\text{Na}^+$  voltage-dépendant Nav1.2, différant de la protéine sauvage par un seul acide aminé.

Chaque variant protéique est nommé d'après l'acide aminé présent initialement dans la séquence sauvage, sa position dans la séquence, et l'acide aminé qui le remplace. Le variant R379Q correspond par exemple à une mutation de l'arginine 379 en glutamine (voir le tableau page suivante, pour la formule et le code à une lettre des acides aminés).

Des ovocytes de Xénope ont été transfectés par un protocole de transgenèse, chacun exprimant une des versions du canal Nav1.2 du rat. Grâce à des expériences de voltage imposé réalisées sur ces ovocytes, il a été possible de déterminer la concentration en TTX nécessaire pour obtenir une réduction de 50 % du courant entrant de  $\text{Na}^+$ , notée  $\text{IC}_{50}$ .

On rappelle que la formule de la TTX est fournie au document 1.

Version	$\text{IC}_{50} \text{ (nmol.L}^{-1}\text{)}$
Sauvage	$18 \pm 4$
R379Q	$17 \pm 2$
Q383E	$28 \pm 3$
D384E	$55 \pm 30$
D384N	$> 10\ 000$
E387Q	$> 10\ 000$
E387S	$> 10\ 000$
N388R	$37 \pm 11$
Q391K	$28 \pm 8$
E942Q	$> 10\ 000$

Version	$\text{IC}_{50} \text{ (nmol.L}^{-1}\text{)}$
E945Q	$2\ 800 \pm 180$
E945K	$> 10\ 000$
K1422E	$> 10\ 000$
M1425Q	$240 \pm 90$
M1425K	$> 10\ 000$
D1426Q	$9,8 \pm 2,3$
D1426K	$7,1 \pm 3,0$
A1714E	$990 \pm 220$
D1717Q	$> 10\ 000$
D1717K	$4\ 100 \pm 1\ 900$

**Question 10.a. Justifiez** l'intérêt des expériences de mutagenèse dirigée, dans le cadre de l'étude du mode d'action de la TTX.

**Question 10.b. Interprétez** les résultats obtenus pour les versions sauvage, D384E et D384N.

**Question 10.c.** Sous forme d'un **schéma**, **présentez** les relations entre la TTX et la protéine Nav1.2, déduites des résultats du document 10. La TTX sera représentée sous la forme d'un rectangle, les acides aminés sous forme de cercles.

**Formule chimique et code à une lettre des acides aminés.**

Ce document n'est pas à analyser pour lui-même.

Glycine G	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Phénylalanine F	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Cystéine C	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{SH} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Alanine A	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Tryptophane W	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Lysine K	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+ \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Valine V	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Sérine S	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Arginine R	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH}_2)_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Leucine L	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Thréonine T	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3) \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Histidine H	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2^+ \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Isoleucine I	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Asparagine N	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Aspartate D	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Méthionine M	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Glutamine Q	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Glutamate E	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Proline P	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_2\text{C}-\text{C}(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{H}_2) \\   \\ \text{H} \end{array}$	Tyrosine Y	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$		

## Thème 4 : toxicité à la TTX et évolution

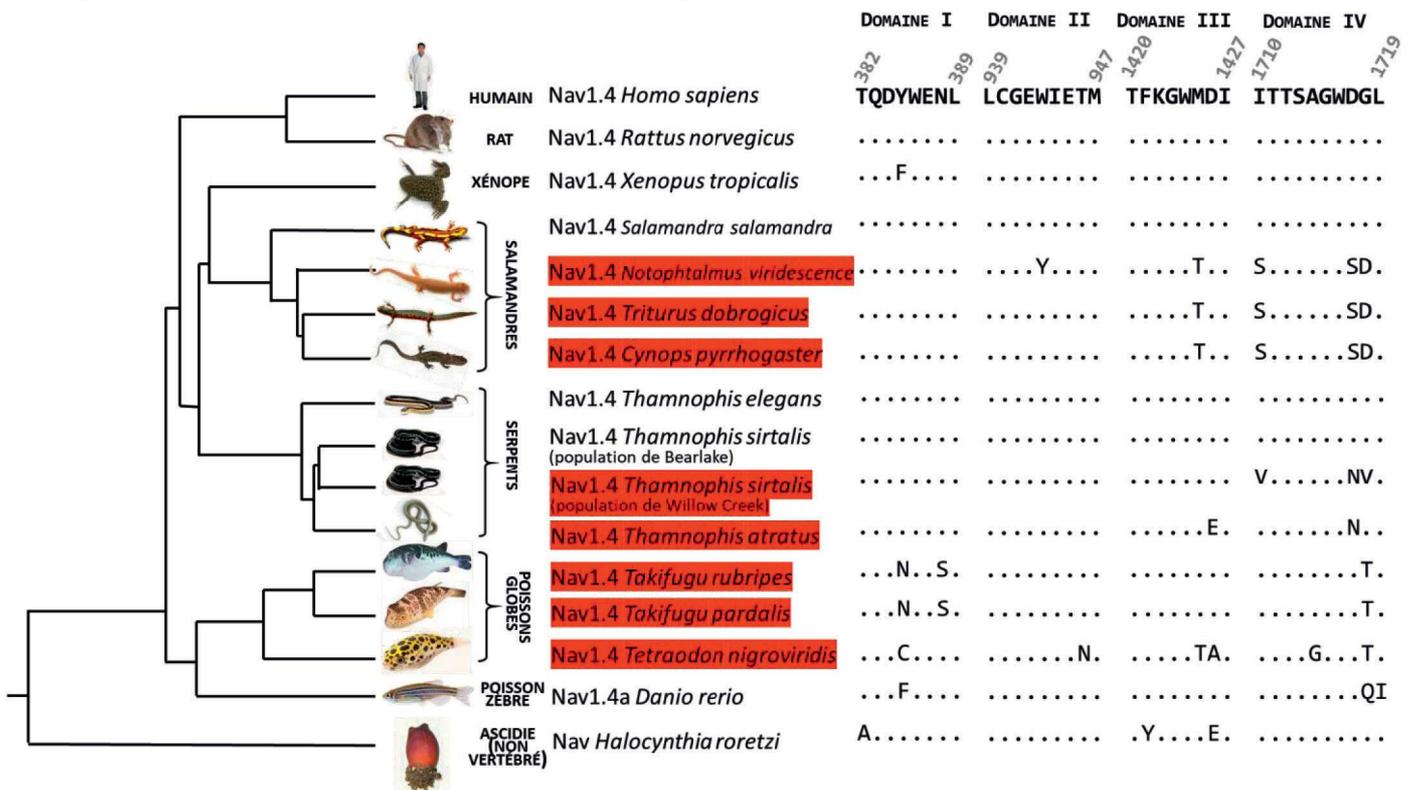
Plusieurs espèces de Vertébrés présentent une toxicité liée à la TTX. En plus des poissons-globes, cela concerne ainsi certaines salamandres et certains serpents. On se propose d'étudier les caractéristiques des canaux Na<sup>+</sup> voltage-dépendants chez ces espèces.

**Document 11** : pour 14 espèces de Vertébrés, les séquences des canaux Na<sup>+</sup> voltage-dépendants Nav1.4 ont été obtenues et alignées sur 1733 acides aminés. Le canal Nav1.4 est proche du canal Nav1.2 étudié au document 10, mais il est codé par un autre gène. La séquence du canal Nav de l'ascidie *Halocynthia roretzi* (un animal non Vertébré constituant un groupe externe) a également été considérée dans l'alignement.

À gauche de la figure se tient l'arbre phylogénétique construit à partir de cet alignement.

Au centre est indiqué le nom du canal (Nav, Nav1.4), le nom d'espèce, et l'éventuelle toxicité liée à la TTX (surligné en rouge = espèce toxique, sans couleur = espèce non toxique).

À droite de la figure sont indiqués des extraits de séquence, sur 4 régions restreintes de la protéine. Les lettres correspondent au code de l'acide aminé (voir le tableau à la page précédente). Les acides aminés identiques à la séquence humaine sont marqués d'un point. Les chiffres en gris indiquent la position de l'acide aminé dans la séquence (même correspondance que dans le document 10 pour le canal Nav1.2).



**Question 11.a.** Annotez l'arbre du document 11 reproduit dans l'annexe A3, à rendre avec la copie, de façon à illustrer l'évolution du caractère « toxicité liée à la TTX », surligné en rouge. Vous privilégiez le scénario le plus parcimonieux.

**Question 11.b.** Mettez en lien la toxicité liée à la TTX et la séquence du canal voltage-dépendant à Na<sup>+</sup>.

**Question 11.c.** En vous appuyant sur vos réponses aux questions 11.a et 11.b, proposez une explication de l'origine évolutive de la toxicité à la TTX chez les salamandres, les serpents et les poissons-globes.

## Bilan

**Question 12. Compléter le schéma-bilan** présent dans l'**annexe A3**, à rendre avec la copie.

Vous y récapitulerez la localisation, l'origine et la fonction de la TTX chez les poissons-globes, ainsi que le mode d'action de la TTX chez les éventuels prédateurs. Pour cela, vous intégrerez les informations pertinentes des documents 1 à 9 (les informations des documents 10 et 11 ne sont pas attendues ici).

**FIN DU SUJET**