	issance) :
Date de liaissance	
N° d'anonymat	Ne rien inscrire dans ce cadre réservé à l'administration
×	
N° d'anonymat	Ne rien inscrire dans ce cadre réservé à l'administration
Centre Organisateur :	
	Clermont Auvergne
	Clermont Auvergne
Session	2018
Concours:	Assistant-e ingénieur-e en biologie, sciences de la vie et de la terre
BAP:	A - Sciences du vivant, de la terre et de l'environnement
Famille Professionnelle:	Biologie et santé, Sciences de la vie et de la terre
Nature:	EXTERNE
	EPREUVE ECRITE D'ADMISSIBILITE
	Durée 3 heures
	31 mai 2018

Les réponses aux questions doivent être données sur ces feuilles d'examen, aux emplacements prévus à cet effet.

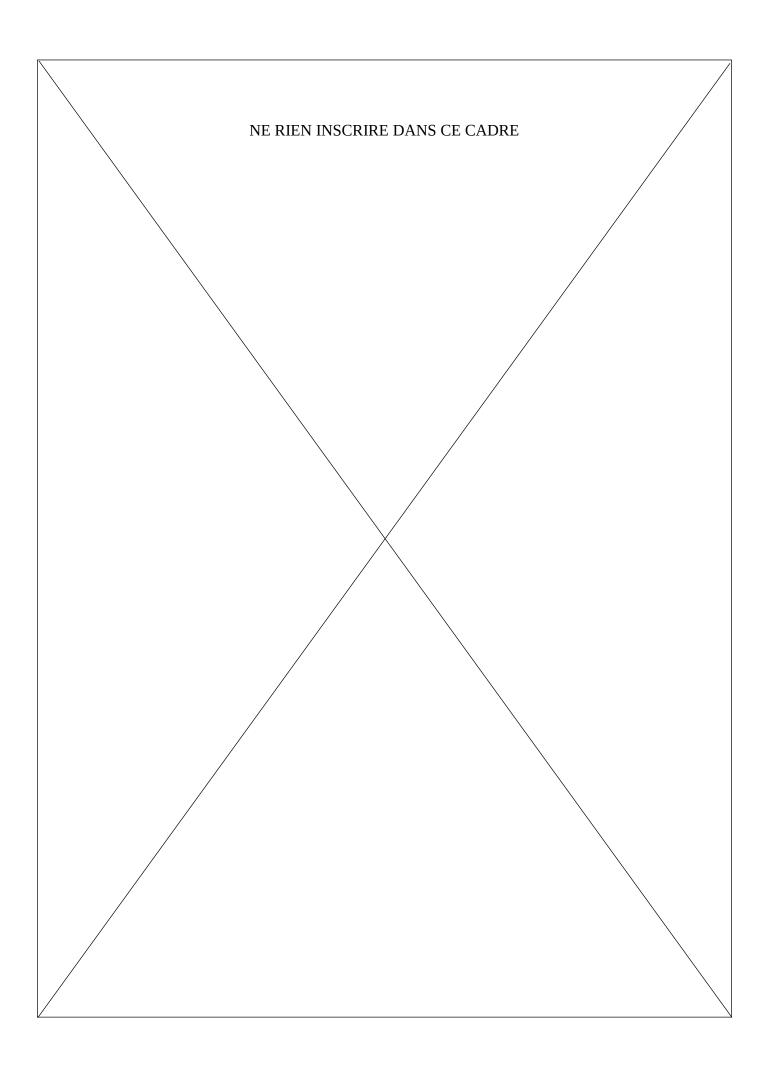
Inscrivez vos **nom, prénom et date de naissance** (uniquement ces informations) sur la partie détachable de la feuille d'examen.

Tout autre signe distinctif rendra nulle votre copie

Vous devez rendre la totalité du document à la fin de l'épreuve sans détacher aucune page Rappel : en aucun cas vous ne devez signer les réponses aux questions posées

Le sujet comporte **31 pages**, en comptant la page d'identification. Vous devez vérifier en début d'épreuve le nombre de pages de ce fascicule. S'il est incomplet, demandez un autre exemplaire au surveillant.

L'usage de tout document, calculatrice ou téléphone portable est strictement interdit



> Expérimentation animale

1-	Définir le statut EOPS d'un animal ?
2-	Expliquer ce que signifie la règle des 3R ?
-	
3-	Quels sont les registres obligatoires dans une animalerie de rongeurs ?
-	
4-	 a. Quelle est la méthode d'anesthésie la plus utilisée en chirurgie pour le rat ou la souris Préciser la voix d'administration de ce produit ? Quelles sont les protections mises en place au poste de chirurgie de par la nature irritante du produit ?
	b. Comment pouvez-vous vérifier la profondeur de l'anesthésie chez le rat ou la souris ?
-	c. Citer deux méthodes de mise à mort éthiquement acceptées chez la souris ?
-	

> Immuno-Histologie

les cellules productrices d'insuline.
Donner le nom des cellules concernées :
Citer et décrire en une phrase les principales étapes de cette technique.
•
•
•
•
•

Vous êtes en possession d'une biopsie de pancréas. Vous devez caractériser par immunohistochimie

➢ Biologie cellulaire

1-	Qu'est-ce qu'un biofilm ?
2-	Quel est le principe de la cytométrie en flux ?
3-	Quel(s) avantage(s) procure(nt) à une bactérie la présence d'un (de) plasmide(s) dans soi cytoplasme ?

4- Exercice

À partir d'une biopsie humaine, des fibroblastes sont mis en culture dans un milieu approprié à 37°C. Après plusieurs jours de culture, l'examen microscopique d'un échantillon de 5 000 cellules révèle que l'index mitotique est de 5 %. Une estimation quantitative de l'ADN contenu dans les cellules interphasiques indique aussi que 50 % des cellules possèdent une quantité **X** d'ADN, 20 % une quantité **2X** et 30 % une quantité intermédiaire entre ces deux valeurs. Enfin, une étude radiographique montre que la phase G1 du cycle cellulaire dure 9,5 heures.

a- Combien de cellules de l'échantillon se trouvent en mitose, G1, S, G2 ?
 Remplir le tableau ci-dessous :

Nombre de cellules	Mitose	G1	S	G2

Détail des calculs :
• b- Quelle est la durée totale du cycle cellulaire ?
• c- Quelle est la durée de la phase S ?

• d- Que se passe-t-il si	on ajoute de la colchicine dans le m	ilieu de culture ?
	ellulaires suivants, quels sont c	
Composants cellulaires	Procaryote	Eucaryote
Membrane plasmique	,	
Microfilament d'actine		
Chloroplaste		
Plasmide		
Enveloppe nucléaire		
Nucléole		
Réticulum endoplasmique		
Vacuole		
Glyoxysome		
Bicouche lipidique		
Centriole		
Paroi		

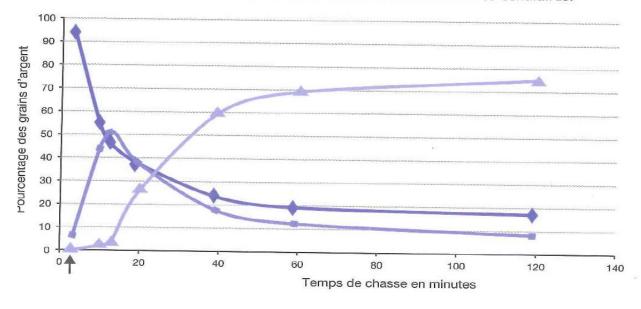
Flagelline

6- Exercice

Dans une expérience, des tranches minces de pancréas sont incubées dans un milieu nutritif où les cellules continuent à vivre et sécréter. Elles sont placées, pendant quelques minutes, dans un milieu « chaud » contenant de la leucine tritiée (radioactive). Ce bref séjour en présence d'un précurseur radioactif est appelé *pulse* (flèche sur le graphique). Les tranches de pancréas sont ensuite replacées, pendant des temps plus ou moins longs, dans un milieu « froid » de même composition chimique que le premier milieu, mais la leucine qu'il contient n'est pas radioactive. Les molécules de leucine tritiée, qui n'ont pas été incorporées dans les protéines pancréatiques pendant le *pulse*, sont ainsi fortement diluées. Elles sont en quelque sorte « chassées », d'où le nom de *chasse* donné à cette étape de l'expérience.

Les courbes suivantes montent l'évolution de la radioactivité des structures cellulaires impliquées dans le transport des protéines. La technique de mise en évidence de la radioactivité est l'autoradiographie.

- **a)** Identifiez sur le graphique la courbe correspondant à chacune des structures cellulaires suivantes : appareil de Golgi, grains de sécrétion, REG.
- b) Expliquez l'évolution de la radioactivité dans ces trois structures cellulaires.



a- Réponses à la question « a) »:

osanges =
arrés =
rianales =

Réponse à la question « b) » :

7- Exercice : Etude d'un protocole expérimental.

Handling procedure for CACO2 cells in flask cultures (75cm²):

- 1. Remove and discard culture medium
- 2. Briefly rinse the cell layer with PBS
- 3. Add 4ml of Trypsin-EDTA solution to flask and observed cells under an inverted microscope until cell layer is dispersed (usually with 5 to 10 minutes)
- 4. Add 4mL of DMEM containing 10% fetal bovine serum
- 5. To remove trypsin EDTA solution, transfer cell suspension to centrifuge tube and spin at approximatly 125 x g for 5 to 10 minutes
- 6. Discard supernatant and resuspend cells in fresh medium (DMEM). A subcultivation ratio of 1:3 to 1:5 is recommended.
- 7. Place culture vessels in incubators at 37° and 5% CO₂.
 - a- Le milieu de culture à utiliser est le **DMEM complémenté d'additifs**.

La composition de ce milieu est la suivante :

DMEM: 1X
Glucose: 20mM
Rouge de phenol 0,02%
Antibiotiques 15µg/mL
Acide ascorbique 2mM
SVF 10%

Dans votre laboratoire, vous disposez :

- de DMEM liquide 2,5X,
- de glucose en poudre (PM =180g/mol)
- d'une solution (100mL) stérile d'antibiotiques à 30mg/mL
- de poudre de rouge de phénol
- d'un litre d'acide ascorbique 35% avec une densité de 2 (PM = 100 g/mol)
- d'une solution liquide stérile de SVF.

Indique	r comment vous allez préparer 250 mL de DMEM stérile.

b-	Pourquoi cultive-t 'on les cellules sous 5% CO2 ?
C-	Quel est le rôle de la trypsine ? Quel est le rôle du DMEM à l'étape 4 ? Par quoi pourrait-on le remplacer ?
d-	Proposer un protocole de cryoconservation de la souche.

•	***************************************
e-	Comment évaluer la viabilité des cellules ?
f-	Point 6 du protocole : Comment allez-vous opérer pour effectuer la dilution au 1:3 ?
g-	Préciser le rôle du rouge de phénol.
•	
•	

> Génétique

1-	Qu'est-ce que la transgénèse ?
2-	Quel est le nom de l'organisme obtenu ?
3-	Comment se fait le transfert ?
4-	Que signifient: « Knock-out », « Knock-in » ? Méthode ?

5- Cocher les bonnes réponses dans le tableau ci-dessous :

		un principe de n cellulaire	La méiose est un principe de duplication cellulaire				
	VRAI	FAUX	VRAI	FAUX			
sexuée							
non sexuée							
concerne la							
gamétogénèse							

> Hygiène et Sécurité

•••	
•••	
•••	
•••	
- Do	nner les définitions des acronymes suivants (domaine hygiène et sécurité).
R =	
– .	
k. =	
·.=	
: СТ.	
J.C.1.	
.=	
.=	
.= - Vo	
.= 8- Vo	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 :
.= 8- Vo	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 :
.= - Vo	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 :
.= - Vo	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 :
.= - Vo	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 :
.= a- vo 	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 : Comment est constitué ce laboratoire L2 ? Quels équipements de protection collectifs et individuels utiliseriez-vous pour faire
a- 	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 : Comment est constitué ce laboratoire L2 ?
:= a- vo 	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 : Comment est constitué ce laboratoire L2 ? Quels équipements de protection collectifs et individuels utiliseriez-vous pour faire
:= a- vo 	tre équipe possède une salle de culture de confinement L2 : Comment est constitué ce laboratoire L2 ? Quels équipements de protection collectifs et individuels utiliseriez-vous pour faire
:= 3- Vo a- 	Comment est constitué ce laboratoire L2 ? Quels équipements de protection collectifs et individuels utiliseriez-vous pour faire

C-	Décrire les agents biologiques pouvant être manipulés ?
d-	Le dispositif de confinement est un poste de sécurité microbiologique de type 2 (PSM2). Que protège-t-il et par quel principe de fonctionnement ?
	Quels produits utiliseriez-vous pour désinfecter ? un milieu de culture liquide à éliminer ?
- I	e plan de travail du PSM ?
f-	Les déchets biologiques issus d'un L2 sont éliminés dans des containers spécifiques à DASRI, que signifie ce sigle ?
••	
g-	Quelle nature de déchets biologiques met-on dans chacun de ces containers ?

4-	Azote	e liquide :
	a.	Où doit être stocké un container à Azote liquide ?
	b	Quelle est sa température?
	C.	Citer les équipements de protection individuelle nécessaires à sa manipulation ?
		Quels sont les deux principaux risques associés à sa manipulation ?
	e.	Dans quel but l'utilise-t-on en laboratoire ?

> Chimie Biochimie

1-	Un brin d'ADN contenant 25 % d'adénine, 25 % de cytosine, 20 % de thymine et 30 % de guanine est répliqué par l'ADN polymérase en un brin complémentaire. L'ADN bicaténaire résultant sert ensuite de modèle à une ARN polymérase qui transcrit le brin complémentaire. Indiquer la composition en bases de l'ARN formé.
2-	Donner la formule générale d'un acide aminé.
3-	Dessiner une liaison peptidique.
4-	Que veut dire SDS PAGE ? décrire le principe de cette technique et l'utilité du SDS.

5- Dessiner une immunoglobuline et légender votre schéma.

6- Exercice:

Dans une stratégie de purification d'une protéine recombinante vous devez suivre le protocole cidessous :

Protocol 13. FPLC purification of 6xHis-tagged proteins from *E. coli* using Ni-NTA Superflow under native conditions

If larger amounts of protein are to be purified or if the purification will be performed using FPLC equipment, a Ni-NTA Superflow column is the method of choice (Figure 24). The physical stability of Ni-NTA Superflow makes it ideal for column chromatography at higher pressures and flow rates.

Assemble the column according to the manufacturer's instructions. Remove the top adapter of the column and cap the bottom outlet.

Completely resuspend a 50% Ni-NTA Superflow slurry and pour the slurry into the column.

Avoid introducing air bubbles. Slowly pour the slurry down a thin glass rod inserted into the empty column. The column and bed size depends on the amount of 6xHistagged protein to be purified. Generally, the binding capacity of Ni-NTA Superflow is 5–10 mg protein per ml resin. Ni-NTA Superflow is supplied as a 50% slurry.

Allow the resin to settle.

The packing procedure can be accelerated by allowing the buffer to flow through by uncapping the bottom outlet. If desired, a peristaltic pump may be used, but do not exceed flow rates of 2 ml/min.

Do not allow resin to dry. If this should occur, resuspend resin in lysis buffer and repack the column.

Before the bed has settled, more slurry may be added to increase bed volume.

Insert top adapter and adjust to top of bed.

Do not trap any air bubbles. The column can now be connected to the system.

Equilibrate column with 5 column volumes of lysis buffer

The flow rate should not exceed 2 ml/min.

Monitor elution at 280 nm; the baseline should be stable after washing with 5 column volumes.

Apply lysate to column and wash with lysis buffer until the A₂₈₀ is stable.

Usually 5–10 column volumes are sufficient.

Monitor pressure at this step. If the lysate is very viscous, the pressure may exceed the recommended value (10 bar). Reduce flow rate accordingly.

Start with a flow rate of 0.5–1 ml/min. If the 6xHis-tagged protein does not bind, the flow rate should be reduced. The flow rate may however be increased for protein elution. Collect the flow-through for SDS-PAGE analysis.

7. Wash with wash buffer until the A_{280} is stable.

Usually 5–10 column volumes are sufficient. Collect fractions for SDS-PAGE analysis.

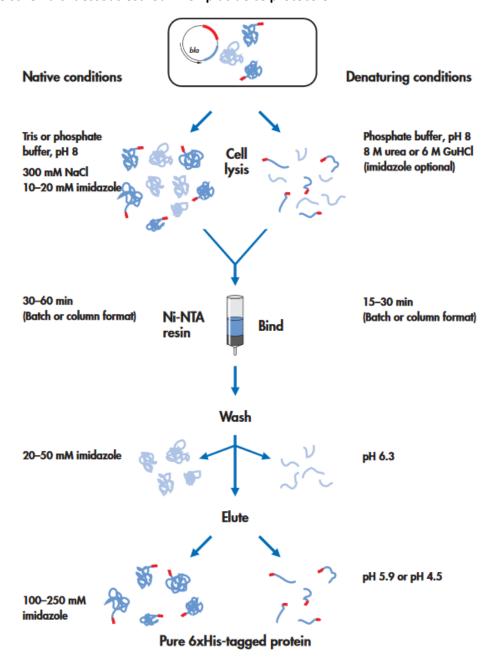
Elute the protein with elution buffer.

If desired, a step-gradient of elution buffer in wash buffer may be used to elute the protein. Five column volumes at each step are usually sufficient. The 6xHis-tagged protein usually elutes in the second and third column volume.

Note: Imidazole absorbs at 280 nm, which should be considered when monitoring protein elution. If small amounts of 6xHis-tagged proteins are purified, elution peaks may be poorly visible.

a-	Quelle méthode brièvement le pri		(type de	résine) est	décrite dans	s ce protoco	le? Expliquer
••••							
••••							
b-	Définir l'utilité/p	rincipe de l'étape	d'équilibra	ation.			
••••							
••••							
c-	Pourquoi suit-on	l'évolution de l'al	osorbance	à 280 nm ?			
••••							
••••							
d-	Comment la prot	éine est-elle élué	e ?				

Le schéma ci-dessous est fourni en plus de ce protocole.



	Deux conditions sont détaillées. Détailler les différences essentielles entre elles. Quels sont les réactifs utilisés ? Pourquoi ?
• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	
•••••	
•••••	

b	-	Explic	quer	le pri	ncip	e de	l'elu	tion	par v	varia	ition	de p)H de	la co	ondit	ion c	lenat	uran	te.		
• • • • • • •	• • • •	•••••	•••••	• • • • • • •	•••••	•••••	• • • • • • •	•••••	• • • • • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• • • • • • • •	• • • • • • • •	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••	• • • • • • • •	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••
																			. .		

Biologie Moléculaire

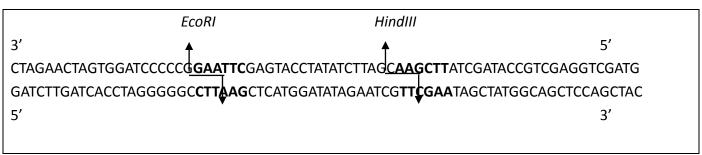
1. Qu'est-ce que les ARNsn?

2. Une enzyme de restriction coupe un palindrome dont la séquence est :

Remplacer les neuf tirets par les lettres symbolisant les nucléotides.

3. Exercice

Le polylinker (MCS) du plasmide pBS est représenté ci-dessous, avec les deux sites de restriction spécifiques de *EcoRI* et *HindIII* :



L'insert (2,5kpb) à amplifier a été introduit entre ces deux sites. Pour l'amplification, deux amorces, dont la séquence est représentée ci-dessous, ont été synthétisées :

Amorce 1: 5'- GGC CTT AAG CTC ATG GAT AT-3'

Amorce 2: 5'- AGC TGG AGC AAT TAT AGC TA-3'

Dans un tube Eppendorf stérile, on ajoute les composants suivants :

Composants	Volume (μl)	Concentration finale
Tampon PCR X10	5	X1
dNTP 10 mM	1	0,2 mM
MgCl ₂ 50 mM	1,5	1,5 mM
Amorce 1 (10 μM)	1	0,2 μΜ
Amorce 2 (10 μM)	1	0,2 μΜ
ADN	10	/
Taq polymérase 5U/μl	0,5	2,5 U
Eau distillée	qsp 50	

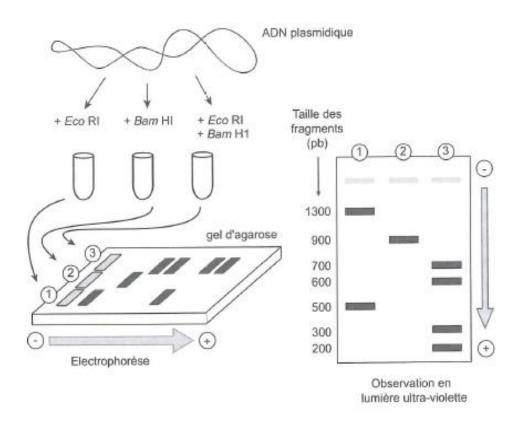
On place les tubes dans le thermocycleur et on applique le programme suivant :

94°C	3 min	
94°C	45s	
55°C	30s	30 cycles
72°C	1 min 30s	
72°C	10 min	
4°C	maintien des pro	oduits de la réaction

plusieu	lyse les produits d'amplification sur gel d'agarose et on n'obtient aucune amplification. Proposer rs hypothèses pour expliquer cette faible amplification de notre séquence d'ADN et proposer pothèses pour remédier au(x) problème(s).

4. Exercice

A partir de la figure ci-dessous, où sont identifiés par électrophorèse sur gel d'agarose les fragments d'ADN d'un plasmide après traitement par les enzymes de restriction EcoRI (1), BamHI (2), ou les deux (3), donner la carte de restriction du plasmide.



Immunologie

La technique ELISA

Vous lisez les recommandations ci-dessous extraites de la notice d'un test ELISA commercial.

8. TECHNICAL HINTS

- Samples generating values higher than the highest standard should be further diluted in the appropriate sample dilution buffers.
- Avoid foaming or bubbles when mixing or reconstituting components.
- Avoid cross contamination of samples or reagents by changing tips between sample, standard and reagent additions.
- Ensure plates are properly sealed or covered during incubation steps.
- Complete removal of all solutions and buffers during wash steps.
- When preparing your standards, it is very critical to briefly spin down the vial first. The powder may drop off from the cap when opening it if you do not spin down. Be sure to dissolve the powder thoroughly when reconstituting. After adding Assay Diluent to the vial, we recommend inverting the tube a few times, then flick the tube a few times, and then spin it down; repeat this procedure 3-4 times. This is a technique we find very effective for thoroughly mixing the standard without too much mechanical force.
- Do not vortex the standard during reconstitution, as this will destabilize the protein.
- Once your standard has been reconstituted, it should be used right away or else frozen for later use.
- Keep the standard dilutions on ice while during preparation, but the ELISA procedure should be done at room temperature.
- Be sure to discard the working standard dilutions after use they do not store well.
- This kit is sold based on number of tests. A 'test' simply refers to a single assay well. The number of wells that contain sample, control or standard will vary by product. Review the protocol completely to confirm this kit meets your requirements. Please contact our Technical Support staff with any questions.

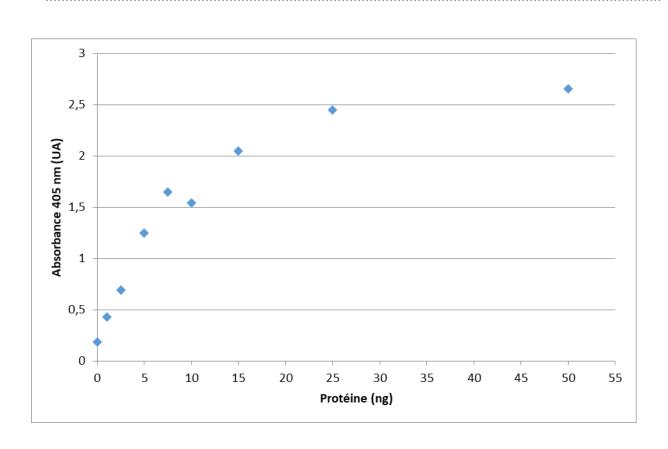
1.	Quelles sont les précautions à prendre dans l'utilisation des standards ? Pourquoi ?
2.	Décrire en quelques lignes le principe d'un test ELISA. Quelles en sont les applications ?

3. Vous disposez d'une microplaque 96 puits pour un test ELISA. Vous avez 12 échantillons différents à tester et une gamme étalon de 10 points. Chacun de ces dépôts (100 μ L) seront réalisés en triplicat.

Proposer un plan de plaque pour votre test ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Α												
В												
С												
D												
E												
F												
G												
Н												

	Le résultat de votre gamme étalon est représenté par la figure ci-dessous. selle est, selon vous, la plage de points qui peut être utilisée dans le cadre d'un test ELISA ?
5.	L'hybridation de l'anticorps primaire est réalisée avec une solution à 1/2500. Donner la marche à suivre pour préparer cette dernière en fonction du nombre de puits que vous disposez.
6.	Décrire le phénomène expliquant les points 25 et 50 ng .



> Statistiques

Exercice

On cherche à évaluer la représentativité d'un marqueur phylogénétique dans un petit échantillon local par rapport à la population française, voir le tableau ci dessous :

Marqueur étudié	Répartition dans la	Nombre dans
	population française	l'échantillon
0123	47 %	104
1258	43 %	76
U456	7 %	18
A987	3 %	2

Répondre aux questions suivantes :

A987
2
0,03
6

alpha= 0,05; 1 ddl: 3,841; 2 ddl: 5,991; 3 ddl: 7,815; 4	ddl : 9,488; 5 ddl : 11,070

5- Que représentent les valeurs suivantes et quelles sont vos conclusions ?

> Microscopie

Voici des images obtenues par microscopie.

Remplir le tableau ci-dessous afin de préciser de quel type de microscopie il s'agit.

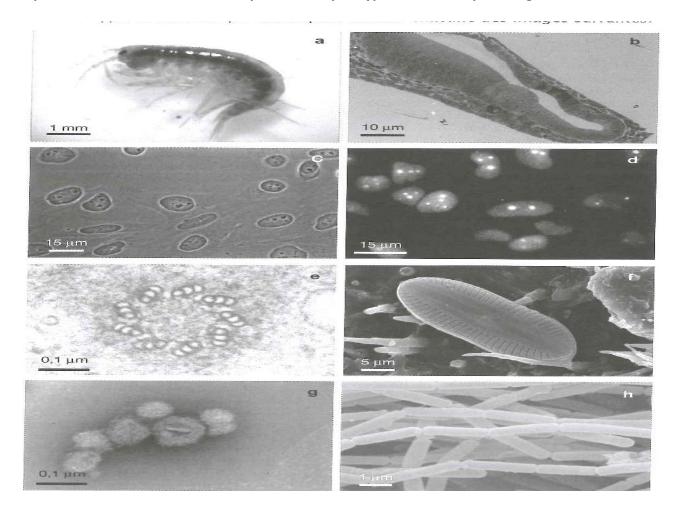


Image	Microscopie
а	
b	
С	
d	
е	
f	
g	
h	