

**CENTRE ORGANISATEUR  
Université de Lorraine**

**CONCOURS EXTERNE BAP A  
Technicien de recherche et de formation Classe Normale**

**Epreuve d'admissibilité**

**Emploi-type : Technicien-ne biologiste**

**CONCOURS ITRF SESSION 2018**

**SUJET D'ADMISSIBILITE – Durée 3 heures – Coefficient 3**

25 mai 2018

---

**Note sur 20**

**N° d'anonymat :** .....

*(ne rien inscrire)*

✂-----

**Anonymat**

NOM : .....

NOM DE NAISSANCE : .....

Prénom : .....

Né(e) : .....

*PAGE VIERGE*

## **INSTRUCTIONS :**

Nous vous remercions de compléter les renseignements concernant votre identité sur la première page du sujet.

Hormis cet entête et conformément au principe d'anonymat, le sujet ne devra comporter aucun signe distinctif, sous peine de nullité. Toute annotation ou mention d'identité portée sur toute autre partie de la copie conduira à l'annulation de votre épreuve.

**Les réponses doivent être apportées directement sur le sujet en utilisant les zones prévues à cet effet. Certaines questions nécessitent une rédaction dans l'espace réservé à cet effet.**

**Chaque question de type QCM aura 1 ou plusieurs réponses.**

Ne pas répondre au crayon à papier sur le sujet.

Le sujet est composé de 5 parties (de la page 5 à la page 27) à traiter en 3 heures. Vérifiez en début d'épreuve le nombre de page du document.

Seul l'usage d'une calculatrice non programmable est autorisé (aucun autre document ou autre matériel électronique).

L'usage du téléphone portable est formellement **INTERDIT**.

*PAGE VIERGE*

## Partie I : Chimie, Biochimie (58 points)

La  $\beta$ -fructosidase appelée invertase catalyse la réaction suivante:



1. Préciser la classe de l'enzyme et pourquoi le saccharose constitue un substrat pour la  $\beta$ -fructosidase

2. Préciser les propriétés physico-chimiques qui apparaissent après hydrolyse du saccharose.

Pour déterminer  $V_i$  de cette réaction, on a suivi à 540 nm, la formation de produit à différents temps :  $t = 1 \text{ min}$  ;  $t = 3 \text{ min}$  ;  $t = 5 \text{ min}$  ;  $t = 7 \text{ min}$  ;  $t = 10 \text{ min}$  et  $t = 15 \text{ min}$ . La réaction est déclenchée en ajoutant l'enzyme et arrêtée en introduisant un réactif d'arrêt.

3. A  $t = 10 \text{ min}$  et  $t = 15 \text{ min}$ , on a mesuré la même absorbance à 540 nm. Que peut-on conclure ?

4. Définir, puis montrer comment peut-on calculer  $V_i$ .

5. Dans quel cas  $V_i$  peut correspondre à  $V_{\text{max}}$  ?

Pour déterminer  $V_{max}$ , une étude de  $V_i$  en fonction de  $S$  a été réalisée. La représentation de  $1/V_i$  ( $\text{mmol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{min}$ ) en fonction de  $1/S$  ( $\text{mmol}^{-1}\cdot\text{L}$ ) a permis d'obtenir une droite dont l'équation est :

$$Y = 0.5 x + 0.2 \cdot 10^3$$

**6. Calculer  $K_M$  et  $V_{max}$**

La même étude est réalisée en présence d'un inhibiteur de concentration  $I = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mmol/L}$  a permis d'obtenir l'équation suivante :

$$Y = 1.5 x + 0.2 \cdot 10^3$$

**7. Déterminer  $K_M'$ ,  $V_{max}'$  en présence de cet inhibiteur**

**8. Préciser de quel type d'inhibition s'agit-il ? Justifier**

**9. Calculer la constante d'inhibition  $K_I$**

On veut purifier la  $\beta$ -fructosidase à partir d'une culture cellulaire d'*E. coli* centrifugée. Les cellules sont mises en suspension dans 2L d'un tampon phosphate de potassium 10 mM, pH 7 contenant du lysozyme à 0,2 % (m/v) et du triton X-100 à 0,2 % (v/v).

**10. Calculez la quantité de lysozyme d'une part et de triton X-100 d'autre part nécessaires pour ces 2 L (le lysozyme est vendu en poudre, le triton X-100 en solution pure à 98 %).**

**11. Préciser le rôle de lysozyme et de tritonX-100**

Après centrifugation, le surnageant est concentré par ultra-filtration jusqu'à obtention d'un volume de 500 mL.

**12. Proposer une autre technique pour concentrer le surnageant**

A 500 mL de cet extrait, on ajoute à basse température de l'acide trichloracétique à 60 %.

**13. Calculez le volume d'acide trichloracétique à ajouter pour avoir une concentration finale de 5 %**

**14. Quel est le rôle de cet acide ?**

**15. Pourquoi l'acide trichloracétique a été ajouté à basse température ?**

On poursuit la purification de cette enzyme (pHi = 4.7) par différentes techniques. Les deux dernières étapes de cette purification sont successivement :

- une chromatographie échangeuse d'ions
- une chromatographie d'exclusion

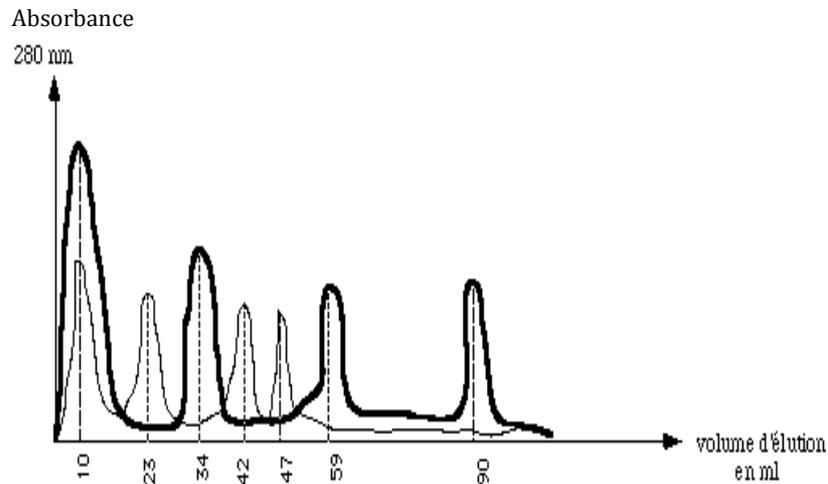
**16. Donner le principe de ces deux techniques chromatographiques**

**17. Rédiger en justifiant un protocole simplifié de purification sur une colonne échangeuse d'anions en précisant :**

- la nature de la phase stationnaire utilisée.
- Le pH de tampon de fixation
- Le mode d'élution utilisé
- Le mode de détection

Après passage sur la colonne échangeuse d'ion, on récupère la fraction contenant la  $\beta$ -fructosidase, que l'on dépose sur une colonne de gel-filtration (chromatographie d'exclusion).

La chromatographie d'exclusion a permis d'obtenir le chromatogramme d'élution suivant :



1 2 3 4

\_\_\_\_\_ Fraction issue de la chromatographie échangeuse d'anions

————— Marqueurs Poids moléculaires

Marqueurs Poids moléculaires en Da :  $5 \cdot 10^3$  ;  $2,5 \cdot 10^4$  ;  $5 \cdot 10^4$  ;  $10^5$

**18. A quel pic correspond la protéine d'intérêt? Justifier sachant que la  $\beta$ -fructosidase que l'on veut purifier a un poids moléculaire proche de 70 000 daltons**

**19. Indiquez les formules chimiques correspondant aux composés suivants :**

- Hydroxyde de sodium :
- Glucose :
- Chlorure de sodium :
- Acide sulfurique :
- Hydroxyde de potassium :
- Chloroforme :

**20. Equilibrer la réaction d'oxydo-réduction en milieu basique**



21. Calculez la masse molaire du cholestérol de formule ( $C_{27}H_{46}O$ )  
(Etapas de calcul demandées)

22. Donnez la formule semi-développée de la butanone

23. Formez tous les couples (un chiffre, une lettre) pour les items qui s'associent logiquement. (Notez-les dans le cadre en dessous du tableau)

Spectroscopie	1	A	Confocale
		B	Ionisation chimique
		C	Caractérisation structure chimique
		D	Optique
Spectrométrie de masse	2	E	Rotationnelle
		F	à fluorescence
		G	Raman
		H	Loi de Beer-Lambert
Spectrophotométrie	3	I	Maldi
		J	Imagerie
		K	Méthode analytique
		L	Proche Infrarouge
Microscopie	4	M	STED (STimulated Emission Depletion)
		N	RMN
		O	Transmittance
		P	Echangeuse d'ions

## **Partie II : Biologie Moléculaire, Génétique (47 points)**

**1. Citer 2 bases puriques rencontrées dans l'ADN ?**

**2. Citer 2 bases pyrimidiques rencontrées dans l'ARN ?**

**3. Qu'est-ce qu'un nucléoside?**

**4. Qu'est-ce qu'un nucléotide?**

**5. Nommer la liaison entre deux nucléotides dans l'ADN ?**

**6. Qu'est-ce qu'une liaison d'hydrogène ?**

**7. Comment appelle-t-on l'enzyme susceptible d'hydrolyser l'ADN ?**

**8. A la suite d'une extraction d'ADN, le rapport  $A_{260 \text{ nm}} / A_{280 \text{ nm}} = 1,6$ .  
Que peut-on conclure ?**

**9. De quoi dépend la migration d'un extrait d'ADN sur un gel d'agarose**

**10. Citer un réactif utilisé pour visualiser les bandes d'ADN sur un gel d'agarose**

**11. Quelles sont les différentes étapes de la PCR ? Vous pouvez répondre sous forme de schéma si vous le souhaitez.**

**12. Quels sont les constituants d'un mélange de PCR ? Rappelez le rôle de chacun de ces constituants.**

**13. Lors du clonage d'un gène, les plasmides sont insérés dans les bactéries par:**

- Transformation
- Enzyme de restriction
- ADN ligase

**14. Lors du clonage d'un gène, les fragments d'ADN peuvent s'hybrider avec les plasmides qui ont été coupés avec la même enzyme:**

- Vrai
- Faux

### 15. Les allèles d'un gène :

- se retrouvent rassemblés dans chaque gamète.
- peuvent changer d'un chromosome à l'autre au sein d'un même bivalent
- occupent toujours le même locus sur un chromosome donné
- peuvent exister sous deux formes différentes dans une cellule diploïde

### 16. Les crossing-over :

- sont des phénomènes aléatoires, ils peuvent avoir lieu à n'importe quel moment de la méiose
- assurent un brassage des allèles de tous les gènes liés chez l'hétérozygote
- s'opposent à une composition d'un chromosome figée de génération en génération
- font apparaître des recombinaisons c'est-à-dire de nouvelles associations d'allèles d'origine maternelle et paternelle

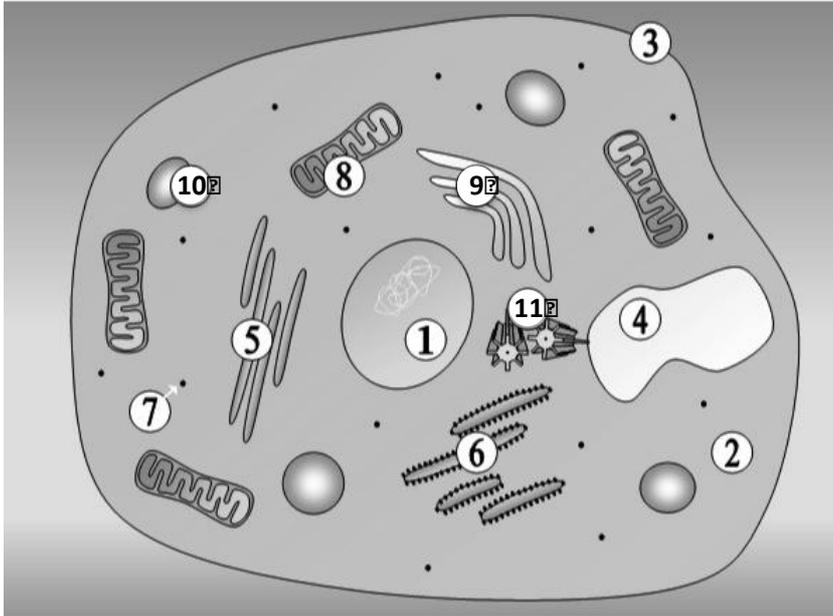
On croise 2 drosophiles, de race pure pour tous les gènes impliqués dans l'établissement du phénotype, l'une aux yeux rouge sombre, l'autre aux yeux rouge vif. Toutes les drosophiles issues de ce croisement (qu'on appelle individus de la F1) ont les yeux rouge sombre. On réalise ensuite un croisement-test entre une femelle F1 et un mâle aux yeux rouge vif. Les résultats expérimentaux sont les suivants :

- 220 individus aux yeux rouge sombre ;
- 660 individus aux yeux rouge vif.

### 17. Montrez que l'on peut affirmer que la différence phénotypique concernée n'est pas due à un seul gène

**Partie III : Biologie Cellulaire, Histologie, Physiologie (65 points)**

1. Annoter les différents éléments du schéma suivant :



1 :

8 :

2 :

9 :

3 :

10 :

4 :

11 :

5 :

6 :

7 :

**2. Quelles vont être les différentes étapes en histologie pour obtenir des coupes histologiques en paraffine à partir d'un prélèvement tissulaire ?**



**3. Que permettent de mettre en évidence les méthodes d'hybridation *in situ* et d'immunohistochimie ?**



**4. A quoi sert le DMSO lors de la congélation de cellules ? Quelle précaution est nécessaire lors de la décongélation ultérieure de ces cellules ?**

**5. Quelles sont les différences entre culture primaire et lignée cellulaire ?**

**6. Quels sont les différents ajouts faits pour préparer un milieu de culture ?**

## 7. Analyse d'un protocole

Cells at passage 3 were suspended in 500 µl PBS containing 20 µg/ml of antibody. After incubation for 30 minutes at 4°C, the cells were washed with PBS and suspended in 1 ml of PBS for flow cytometry analysis. FITC or PE antibodies against CD34, CD45, CD90, CD44, CD 71 and CD105 were used. FITC or PE-conjugated isotype control nonspecific mouse IgGs were used. Each sample had 10 000 events collected for analysis.

**7a- Quelle est la technique utilisée dans ce texte ? Que permet d'analyser cette technique ?**

**7b- Qu'est-ce qu'un anticorps ?**

**8. Pour faire un test de viabilité avant l'ensemencement de vos cellules, qu'utilisez-vous?**

- du bleu de Coomassie
- du bleu Alcian
- du bleu Trypan
- du bleu de Toluidine

**9. A quoi sert une cellule de Malassez?**

- à la visualisation des protéines
- à faire de la co-culture
- à réaliser de colorations histologiques
- au comptage cellulaire

**10. Le lymphocyte B :**

- participe à l'immunité spécifique
- peut se transformer en plasmocyte
- siège exclusivement dans les chaînes ganglionnaires
- est impliqué dans la « mémoire » immunitaire.

**11. Parmi ces différentes cellules, lesquelles n'ont pas de rôle dans la défense immunitaire :**

- les hématies
- les polynucléaires neutrophiles
- les lymphocytes T
- les plaquettes

**12. Un anticorps :**

- est aussi appelé une immunoglobuline
- est synthétisé par les lymphocytes T
- a une activité spécifique envers un antigène
- est de nature glucidique

**13. L'immunité :**

- peut être un processus adaptatif
- est le fait exclusif de mécanismes cellulaires
- permet à l'organisme de faire face à une agression bactérienne
- peut être aspécifique

**14. La réaction inflammatoire :**

- est un processus mettant en jeu des médiateurs chimiques et cellulaires
- n'est observée qu'en présence d'une infection
- engendre des modifications vasculaires
- est un phénomène douloureux

**15. Citez 3 types de leucocytes :**

- 
- 
-

**16. La stérilisation de matériel:**

- se pratique sans décontamination préalable
- peut se faire dans un autoclave
- est indiquée pour éviter les infections
- permet la destruction des virus

**17. La digestion :**

- est un processus mettant en jeu des enzymes
- permet l'absorption de glucides
- commence dans la cavité buccale
- est un processus de dégradation du bol alimentaire

**18. Parmi ces cellules, quelles sont celles observées dans l'os :**

- l'ostéoclaste
- l'ostéoblaste
- le mélanocyte
- l'hépatocyte

**19. Le pancréas :**

- est une glande exocrine
- sécrète l'insuline
- sécrète l'adrénaline
- produit le suc gastrique

**20. L'insuline :**

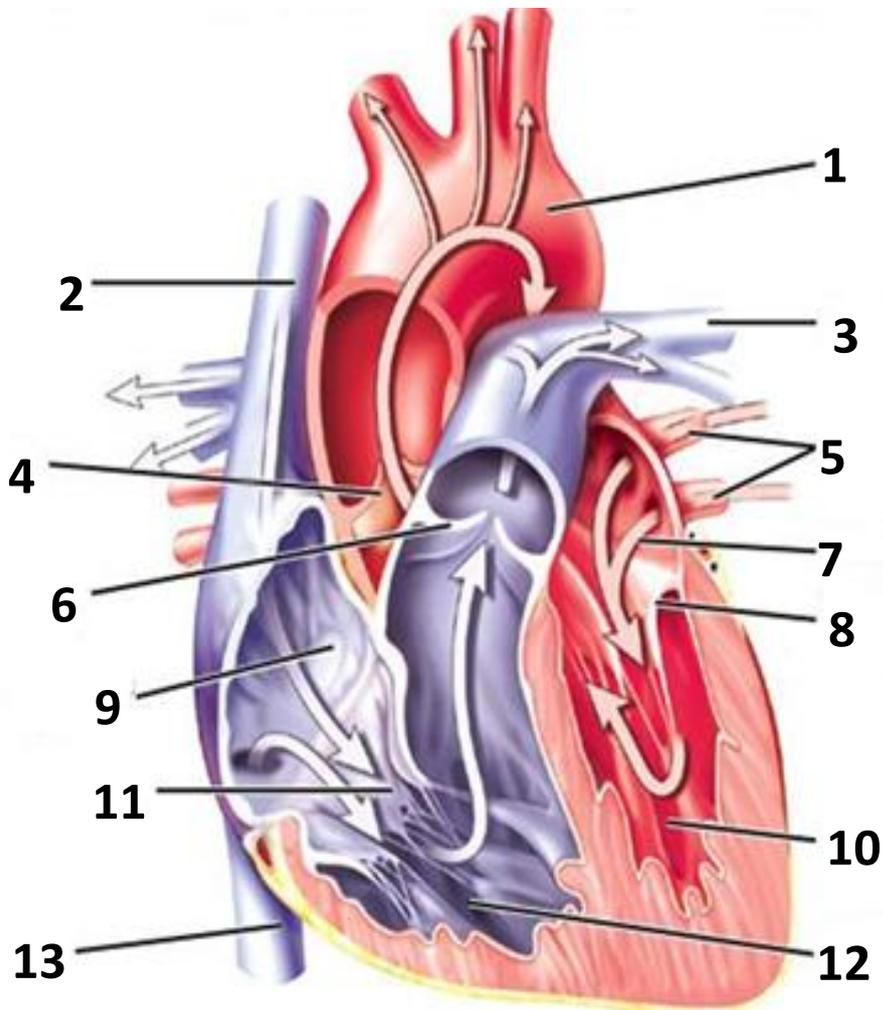
- est une protéine
- a une action hormonale
- permet de réguler la glycémie
- est une enzyme digestive

**21. Un virus :**

- est une protéine
- possède un appareil de golgi
- peut se répliquer seul
- peut comporter de l'ADN

**22. Une bactérie :**

- est systématiquement pathogène
- ne contient pas d'acides nucléiques
- peut se multiplier
- est éliminée par le processus de stérilisation



**23. Nommez les éléments fléchés**

**1 :**

**8 :**

**2 :**

**9 :**

**3 :**

**10 :**

**4 :**

**11 :**

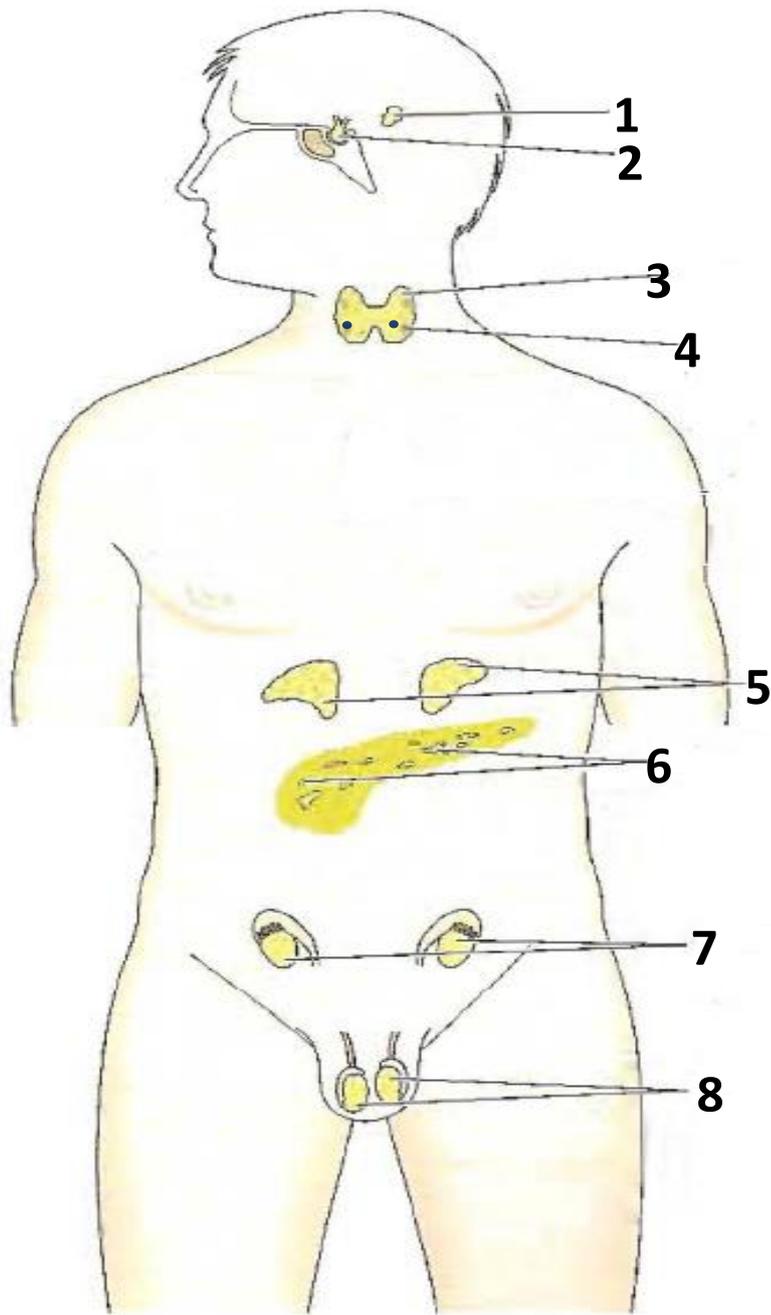
**5 :**

**12 :**

**6 :**

**13 :**

**7 :**



**24. Nommez les éléments fléchés**

**1 :**

**5 :**

**2 :**

**6 :**

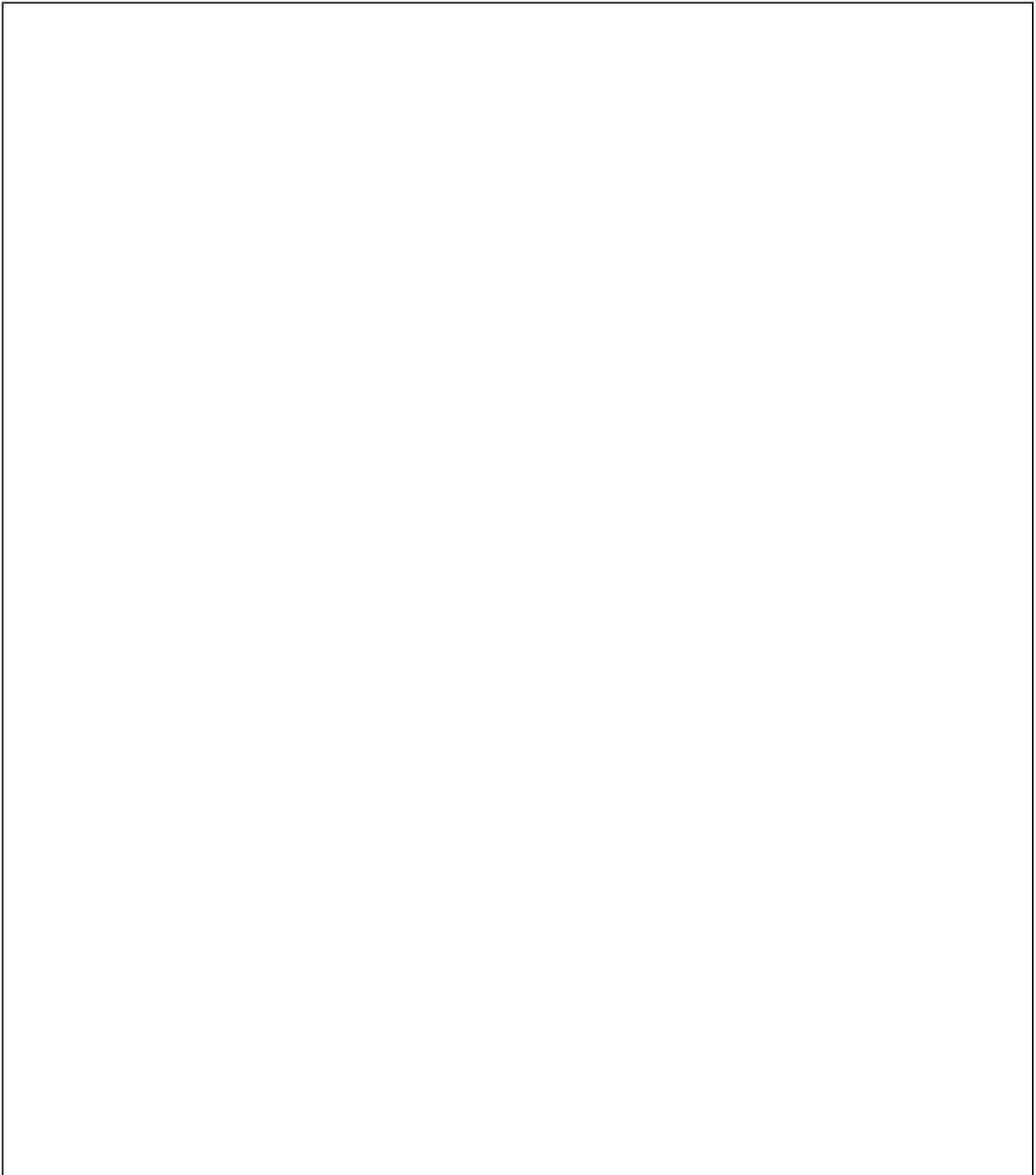
**3 :**

**7 :**

**4 :**

**8 :**

**25. Donnez une fonction à chacun des organes représentés sur ce schéma**



## **Partie IV : Pratiques de laboratoire, Hygiène et Sécurité (27 points)**

### **1. Préparation de solution tampon**

On vous demande de préparer 200 ml d'une solution tampon acétate/ acide acétique de pH 4.6. Vous disposez pour cela d'un tableau de référence :

pH	Acétate de sodium à 0.2mol/L Volume en mL	Acide acétique à 0.2mol/L Volume en mL
3,8	12	88
4	17	83
4,2	24	76
4,4	34	66
4,6	45	55
4,8	57	43
5	68	32
5,2	78	22
5,4	83	17

Vous disposez : d'acétate de sodium anhydre de masse molaire : 82,03g/mol et d'acide acétique glacial de masse molaire : 60,05g/mol, de densité : 1,05g/cm<sup>3</sup>, pureté : 100 %.

#### **1a- Rappelez brièvement le rôle d'une solution tampon**

#### **1b -Indiquez succinctement les étapes nécessaires ainsi que les résultats de calculs éventuels pour réaliser cette solution.**

## 2. Exercice

On vous demande de réaliser la production d'une enzyme par fermentation. Pour cela vous avez besoin de préparer 30 litres de milieu de culture et 3 litres de tampon PBS.

**2a- Complétez les masses à peser dans les tableaux ci-dessous :**

Composition milieu de culture	Masse à peser
Bactotryptone 16g/l	
Extrait de levure 10g/l	
NaCl 5g/l	

Composition du tampon PBS	Masse à peser
Na Cl (MM 58,4) 140mM	
KCl (MM 74,55) 2,7mM	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (MM 358,14) 10mM	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (MM 136,09) 1,8mM	

Vous devez procéder maintenant à la commande des produits nécessaires. Vous bénéficiez d'une offre de remise de 15% sur les produits chimiques, les frais de port TTC s'élevant à 20 euros.

**2b- Complétez au centième d'euros près le bon de commande ci-dessous :**

Conditionnement	Prix unitaire en euros	Quantité	Montant H.T.
Bactotryptone 500g	150		
Extrait de levure 250g	32		
NaCl 1Kg	25		
KCl 1Kg	32		
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 500g	45		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 500g	60		

Total H.T.	
Remise	
Montant TTC (TVA 20%)	
Total à régler	

**3. Donnez la signification des pictogrammes suivants :**



.....



.....



4. Lors de la réalisation d'une expérience, vous vous apercevez que vous venez de commettre une erreur (cela arrive à tout le monde) dont vous ne pouvez évaluer les conséquences :

- Vous le signalez à votre responsable scientifique
- Vous recommencez l'expérience de votre propre chef
- Vous consignez ce problème dans votre cahier de laboratoire et vous continuez
- Vous ne dites rien et vous continuez l'expérience

5. Pour effectuer avec précision des pesées entre 50g et 0,5g, vous utilisez :

- Une balance d'une portée de 100g et d'une précision de 0,01g
- Une balance d'une portée de 50g et d'une précision de 0,0001g
- Une balance d'une portée de 50g et d'une précision de 1g
- Une balance d'une portée de 1000g et d'une précision de 10g

6. Quelle masse d'agarose faut-il peser pour faire 600mL à 1,4% ?

- 84mg
- 8,4g
- 840mg
- 8400mg

7. Vous devez préparer une solution diluée d'acide à l'aide d'une solution concentrée.

Quelle est la précaution la plus importante à prendre ?

- Verser l'acide dans l'eau
- Verser l'eau dans l'acide
- Verser l'eau et l'acide en même temps

**8. Selon vous, les règles d'hygiène et de sécurité :**

- Concernent uniquement la protection du manipulateur
- Concernent uniquement la protection des personnes
- Concernent la protection des personnes et des matériels
- Sont applicables uniquement dans les laboratoires

**9. Au cours d'une expérimentation en laboratoire, il vous reste certains produits en excédent. Indiquez pour chacun de ces produits, les protections à utiliser pour leur manipulation et le moyen/traitement que vous utiliseriez pour vous en débarrasser :**

produit	protection	élimination
Phénol		
Chlorure de sodium		
Culture de bactéries		
B.E.T.		
Acétone		
Toluène		

**10. Quel(s) est(sont) le(s) procédé(s) de stérilisation adéquat(s) ? :  
(Répondez par des croix)**

	Chaleur humide	Chaleur sèche	Filtration
Flacon verre vide			
Outils à dissection			
Milieu de culture liquide			
Solution de saccharose			

**11. Travaillez- vous sous la hotte aspirante quand vous utilisez les produits suivants ?  
(Répondez par des croix)**

	Acide nitrique 90%	Hydroxyde de sodium	Méthanol	Solution d'acides aminés
oui				
non				

