

Nom Patronymique (nom de naissance) :
Prénom :
Nom Marital :
Date de naissance :

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 :



Session 2019

Concours : Assistant-e ingénieur-e en expérimentation et instrumentation biologiques

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 – Coefficient 4

12 juin 2019

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 **28 pages** en comptant la page d'identification et **2 feuilles de papier millimétré**. 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.

NE RIEN INSCRIRE DANS CE CADRE

Partie 1 : Connaissances générales

Q.1 Mettre une croix pour les réponses justes.

	ribosomes	noyau	chloroplastes	mitochondries	paroi	membrane plasmique
Cellule animale						
Cellule végétale						
Cellule eucaryote						
Cellule procaryote						

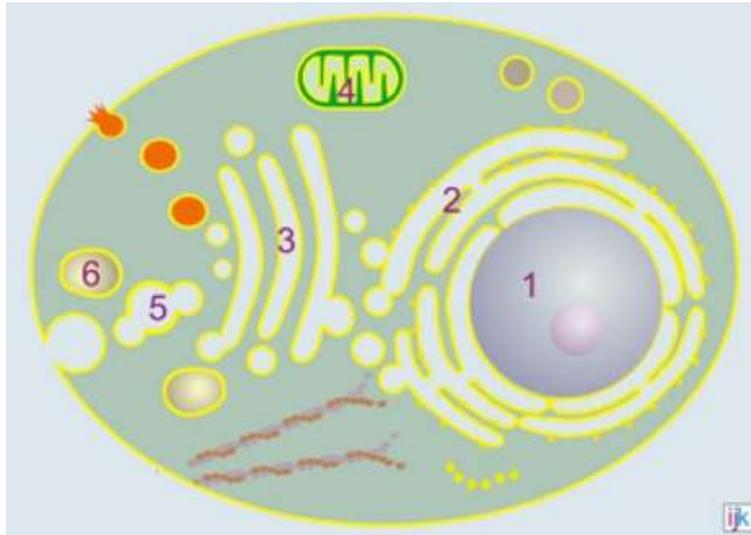
Q.2 Quelle différence y a t'il entre une culture primaire et une culture secondaire ?

.....
.....
.....
.....

Q.3 Pourquoi cultiver les cellules sous CO₂ ?

.....
.....
.....
.....

Q.4 Donner un nom aux 6 organites indiqués par des chiffres.



- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

Q.5 Donner les différentes phases du cycle cellulaire.

.....
.....
.....
.....

Q.7 Quelle est l'action du beta-mercapto-éthanol sur les protéines ?

.....
.....
.....
.....

Q.8 Définir le principe et l'intérêt de la technique de RNA seq.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.9 Définir le principe et l'intérêt de la technique ELISA.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.10 La loi de Beer Lambert

Soit la loi de Beer Lambert : $A = \epsilon \times l \times C$

Avec :

A : l'absorbance,

ϵ : le coefficient d'extinction molaire,

l : la longueur du trajet optique en cm,

C : la concentration en mol·L⁻¹

1/ Quelle est l'unité du coefficient d'extinction molaire ?

.....
.....

2/ Citer un appareillage de laboratoire qui utilise cette loi.

.....
.....
.....

3/ Quelles sont les macromolécules qui peuvent être dosées grâce à cette loi ?

.....
.....
.....

4/ Quelles sont les espèces chimiques qui sont détectées :

à 280 nm ?

.....

à 260 nm ?

.....

5/ Que permettent d'évaluer les ratios :

260/280 ?

.....

260/230 ?

.....

6/ L'expression de gènes liés à la résistance aux pesticides doit être mesurée chez *Arabidopsis thaliana*.

Trois extractions d'ARN sont effectuées sur des feuilles d'*Arabidopsis thaliana* : l'une à partir de plantes non stressées (Echantillon : NS) et deux autres après croissance en présence de pesticides (Echantillons : P1 et P2).

Les ARN en solution sont dosés à la longueur d'onde adéquate. L'appareil nécessite 100 µL de solution (non récupérable) pour chaque mesure.

La première mesure (NS) donne une absorbance dépassant les capacités de l'appareil, alors que la mesure de l'échantillon P1 donne une absorbance de 0,001 unités, l'absorbance de P2 n'est pas mesurée (Tableau 1). Une fraction de chaque solution d'ARN est alors diluée **précisément** au 1/20 pour obtenir un volume final de 200 µL. L'absorbance mesurée est alors de 0,99 pour NS, 0,001 pour P1 et 1,35 unités pour P2 (Tableau 1). Certaines absorbances sont encore au-delà des capacités de l'appareil. Les volumes restants des solutions diluées au 1/20 sont alors utilisés pour obtenir 200 µL d'une solution diluée au 1/100 par rapport aux échantillons originaux. L'absorbance de ces solutions est de 0,23 pour l'échantillon NS, 0,0005 pour l'échantillon P1 et 0,31 pour l'échantillon P2 (Tableau 1).

Les rapports des absorbances à 260 et 230 nm (Ratio 260/230 nm) et à 260 et 280 nm (Ratio 260/280 nm) des échantillons sont donnés dans le tableau 1.

Tableau 1

Echantillon	1ère mesure	2de mesure	3ème mesure	Ratio 260/280 nm	Ratio 260/230 nm
NS	HC	0,99	0,23	2,05	2,03
P1	0,001	0,001	0,0005	1,59	0,9
P2	NM	1,35	0,31	2,01	2,02

HC : absorbance hors des capacités de l'appareil

NM : non mesurée

6.a L'échantillon P1 est-il exploitable ? Pourquoi ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

6.b D'après les absorbances du tableau 1, calculer la concentration de la dilution 1/100 pour les échantillons NS et P2, sachant que 1 unité d'absorbance = 40 µg/mL d'ARN et en déduire les concentrations de chaque échantillon initial. Détailler les calculs.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

6.c Quelle est la quantité d'ARN restante et utilisable (en µg) pour les échantillons NS et P2 sachant que chaque extraction d'ARN a permis d'obtenir 0,5 mL d'ARN en solution ? Détailler les calculs.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Q.11 Le dosage selon Bradford

Vous devez réaliser le dosage d'une solution protéique que vous avez purifiée au laboratoire. Vous allez effectuer un dosage colorimétrique en microplaque selon la méthode de Bradford.

1/ Quel est le réactif utilisé pour le dosage colorimétrique des protéines dans la méthode de Bradford ?

.....
.....

2/ Pour cela, vous devez réaliser une courbe étalon en PBS (tampon phosphate salin). Celle-ci est réalisée en triplicat en microplaque. Vous disposez d'une solution de BSA à 1mg/mL et de tampon PBS 1X.

2.a *Que signifie BSA ?*

.....
.....

2.b *Compléter le tableau suivant*

Concentration BSA en µg/ml	1000	750	500	250	125	25	0
Volume de BSA (solution mère) en µl							
Volume de diluant en µl							
Volume à déposer dans la plaque en µl	10	10	10	10	10	10	10

3/200µl de réactif sont ajoutés dans chaque puits de la microplaque et l'absorbance est ensuite lue à 595nm.

3.a *Sachant que le réactif absorbe normalement à 465 nm, pourquoi la lecture se fait-elle à 595nm ?*

.....
.....
.....
.....

3.b Voici le résultat de la lecture effectuée. Le zéro du spectrophotomètre est réalisé sur du tampon PBS.

	Gamme étalon							Dilution de l'échantillon		
								Non dilué	1/10	1/100
Concentration en BSA (µg/mL)	0	25	125	250	500	750	1000			
A _{595nm}	0,269	0,297	0,379	0,454	0,579	0,704	0,832	2,619	0,512	0,322
A _{595nm}	0,271	0,287	0,361	0,436	0,586	0,697	0,809	2,471	0,520	0,311
A _{595nm}	0,270	0,292	0,370	0,445	0,582	0,700	0,820	2,540	0,517	0,307

Les résultats de la gamme d'étalonnage sont exploités en réalisant une moyenne des absorbances. Tracer la courbe d'étalonnage : absorbance=f(quantité) **sur feuille papier millimétré.**

3.c Etant donné que l'équation de la droite de régression correspondant à cette courbe est $y = 0,0006x + 0,0208$ avec un $R^2 = 0,99166$, calculer la concentration de la protéine à doser.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3.d Pourquoi a-t-on fait plusieurs dilutions de la protéine dont on voulait connaître la concentration ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Q.12 Citer le nom d'une méthode statistique permettant l'analyse de données paramétriques et le nom d'une méthode pour des données non paramétriques.

.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.13 Dans quel cas la moyenne arithmétique et la médiane sont égales ?

.....
.....
.....
.....
.....

Q.14 Se protéger

1/ Quelles sont les voies de contamination possibles lors d'une expérimentation ?

.....
.....
.....
.....

2/ Citer deux protections individuelles

-.....
-.....

3/ Citer deux protections collectives

-.....
-.....

Q.15 Quelles précautions devez-vous prendre pour l'utilisation de l'azote liquide ?

.....
.....
.....
.....
.....

Q.16 Que signifient les acronymes suivants ?

CHSCT :
DASRI :
FDS :
RPS :
DUER :
AP :

Partie 2 : Connaissances particulières d'un domaine

DOMAINE 1 – La Cytométrie en flux

Q.1 Décrire brièvement le principe et les applications de la technique de cytométrie en flux.

.....
.....
.....
.....
.....

Q.2 Quelle source de lumière est la plus utilisée en cytométrie en flux ?

.....
.....
.....
.....

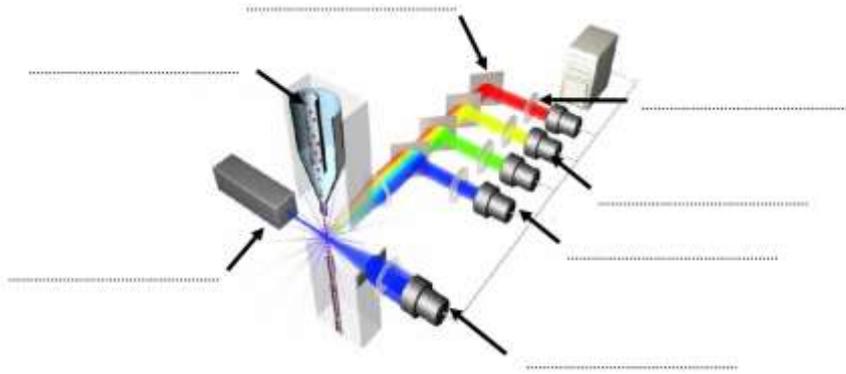
Q.3 Que veut dire FSC ? Quelle(s) information(s) apporte(nt) cette mesure ?

.....
.....
.....
.....

Q.4 Que veut dire SSC ? Quelle(s) information(s) apporte(nt) cette mesure ?

.....
.....
.....
.....
.....

Q.5 Annoter le schéma ci-dessous



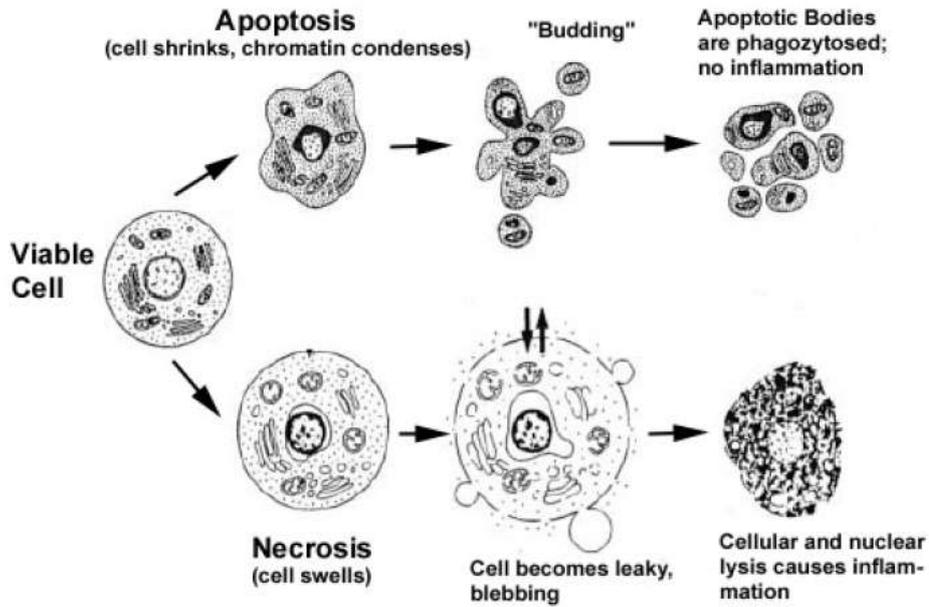
Q.6 Combien de particules peuvent passer en même temps à travers le faisceau ?

.....
.....

Q.7 Expliciter brièvement le phénomène de fluorescence.

.....
.....
.....
.....

Q.8 Marquage à l'annexine V pour la détection de la mort cellulaire.



1/ En vous aidant du schéma, expliquer ce qui différencie les voies de l'apoptose et de la nécrose.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2/ Expliquer pourquoi l'annexine V est utilisée comme marqueur spécifique de l'apoptose.

.....

.....

.....

.....

4/ L'iodure de propidium (PI) est une sonde se fixant sur les acides nucléiques. Expliquer son utilité dans ce protocole.

.....

.....

.....

.....

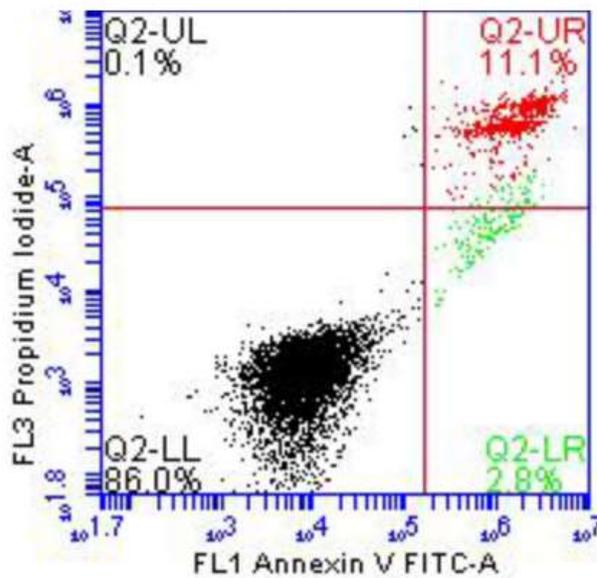
.....

.....

.....

.....

5/ Vous obtenez le résultat ci-dessous.



Donner la proportion

- de cellules en pré-apoptose :

- de cellules vivantes :

- de cellules en nécrose :

DOMAINE 2 – Les techniques de biochimie et de biologie moléculaire

Q.1 Au cours d'une chromatographie sur Sephadex, on détermine les temps de rétention (t_r) de 5 protéines dont on connaît la masse moléculaire (MM). Le débit de la colonne est de 5 ml/min.

	MM	Log MM	t_r (min)	V_e (ml)
Aldolase	145000	5.16	10,4	
Lactate déshydrogénase	135000	5.13	11,4	
Phosphatase alcaline	80000	4.9	18,4	
Ovalbumine	45000	4.65	26,2	
Lactoglobuline	37100	4.57	28,6	

1/ Calculer les volumes d'éluion (V_e) correspondants à chaque protéine.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2/ Tracer le logarithme de la masse moléculaire en fonction du volume d'éluion : $\log MM = f(V_e)$ **sur feuille papier millimétré**

3/ Que remarquez-vous ?

.....
.....
.....
.....
.....

4/ La glucokinase est une autre protéine dont le $t_r = 21$ min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent. Existe-t-il une autre méthode pour déterminer la MM ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.2 La PCR

Vous devez réaliser l'amplification par PCR de la séquence suivante :

LOCUS JQ064510 1150 bp DNA linear SYN 20-FEB-2012 DEFINITION Synthetic construct clone eGFP-OsP5SM_E/R eGFP (eGFP) gene

```
1 atgtctagag tgagcaaggc cgaggagctg ttcaccgggg tggtgcccat cctggtcgag
61 ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg gcgagggcga gggcgatgcc
121 acctacggca agctgaccct gaagttcatc tgcaccaccg gcaagctgcc cgtgccctgg
181 cccaccctcg tgaccaccct gacctacggc gtgcagtgtc tcagccgcta ccccgaccac
241 atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag gctacgtcca ggaggtagat
301 ttatgcatcc tcttgtcatg agaagtcgaa ttggtcccat tctgtgtgtt gcagctacag
361 atggagatac atagagatac tcgtggattt tgcttagtgt tgagttttgt tctggttgtg
421 aactaaaagt ttatacattt gcaggaaata aatagccttt tgtttaaatc aaaaggctct
481 acctatgtta gtgtgaagca ttggatccca aagaactcca aaatgcgatg aggcataattt
541 aatcttgtct ggactagtaa caggttggga tgaccacctg tgaagctcca acaggattgc
601 ctctcacgc aatgtttgag gtctgatgtt caatagcttg ttttgtttca ctttgctttg
661 gactttcttt tcgccaatga gctatgtttc tgatggtttt cactcttttg gtgtgtagag
721 aaccatcttc ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgagggtga agttcgaggg
781 cgacaccctg gtgaaccgca tcgagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat
841 cctggggcac aagctggagt acaactaaa cagccacaac gtctatatca tggccgacaa
901 gcagaagaac ggcatcaagg tgaacttaa gatccggcac aacatcgagg acggcagcgt
961 gcagctcgcc gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc
1021 cgacaaccac tacctgagca cccagtccgc cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga
1081 tcacatggtc ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcgga tggacgagct
1141 gtacaagtaa
```

1/ Parmi les amorces suivantes quel(s) couple(s) vous permettra d'amplifier cette séquence ?

amorce1 : ATGTCTAGAGTGAGCAAGGG

amorce 2 : TACAGATCTCACTCGTTCCC

amorce 3 : TTACTIONTACAGCTCGTCCA

amorce 4 : AATGAACATGTCGAGCAGGT

amorce 5 : TGGACGAGCTGTACAAGTAA

.....
.....
.....
.....
.....

2/ Donner le principe de calcul de la température de fusion (T_m) des amorces.

.....
.....
.....
.....
.....

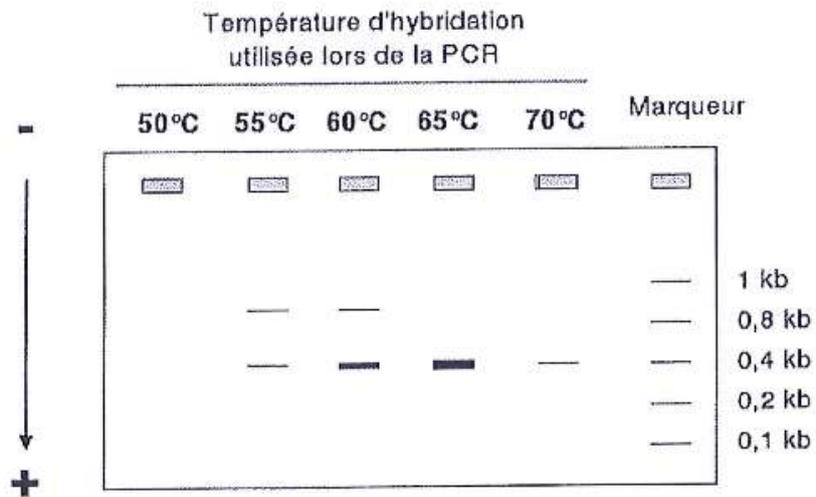
3/ Quelle est la longueur du fragment obtenu lorsque les amorces choisies dans la question « 1/ » sont utilisées ?

.....
.....
.....
.....

4/ Définissez la PCR, quel en est le principe et quelles en sont les différentes étapes ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

5/ Pour une autre expérience, les amorces à utiliser pour détecter un transgène G ont une T_m théorique de 60°C. Vous réalisez votre PCR sur l'ADN d'un animal, qui porte le transgène G, avec différentes températures d'hybridation. Après migration sur gel d'agarose et révélation au BET vous obtenez les résultats ci-dessous sachant que la taille du fragment de PCR attendu est de 400 pb.



5.a Interpréter ces résultats.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

5.b Quel(s) choix faites-vous pour la suite de l'expérience ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

DOMAINE 3 – L'utilisation d'animaux à des fins scientifiques

Q.1 Donner la signification de chaque R de la règle dite des « 3R ».

.....
.....
.....

Q.2 Citer 3 fonctions légales existant obligatoirement dans un établissement utilisateur pour qu'il soit agréé.

.....
.....
.....

Q.3 Citer 3 méthodes légales d'euthanasie chez les petits rongeurs (souris, rats).

.....
.....
.....

Q.4 Selon la législation, que devez-vous faire avant toute expérience impliquant des animaux vivants ?

.....
.....
.....
.....

Q.5 Quelle formation réglementaire doit avoir suivie une personne qui rédige et porte un projet utilisant des animaux à des fins scientifiques ?

.....
.....
.....
.....

Q.6 Qu'autorise la validation de la formation expérimentateur/praticien que ne permet pas la validation de la formation de soigneur ?

.....
.....
.....
.....

Q.7 Pourquoi utilise-t-on souvent des lignées consanguines en expérimentation animale ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.8 Qu'est-ce qu'une souris KO ?

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Q.9 Citer 2 moyens de modifier le génome d'une souris ?

.....
.....
.....
.....
.....

Q.10 En stéréotaxie, qu'appelle-t-on « le bregma » et « le lambda » ? En quoi sont-ils importants pour la stéréotaxie ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Q.11 Protocole expérimental

The development of chronic wounds on the back of db/db^{-/-} mice is accomplished by treatment with specific inhibitors for catalase (ATZ) and glutathione peroxidase (MSA). The following procedure details the dose and administration of the analgesia and inhibitors based on the weight of the mouse. 1. Buprenex is a pain reliever and is injected intraperitoneally at 0.05mg Buprenex/kg mouse in sterile PBS. The volume injected for a 60g mouse is 120µl approximately 30 mins before surgery. Another dose is given 6 hours after surgery. An extra dose may be given if the mouse is in pain. 2. ATZ is injected intraperitoneally at 1g ATZ/kg mouse in sterile PBS. The volume injected for a 60g mouse is 480µl approximately 20 minutes before surgery. Half of the volume is injected on the left side of the abdomen and the other half on the right side. 3. MSA is administered topically onto the wound between the Tegaderm and the wound tissue at 150mg MSA/kg mouse in sterile PBS. The volume injected for a 60g mouse is 60µl within 10 minutes after surgery.

1/ Quel est le nom de l'analgésique utilisé dans le protocole ci-dessus ?

.....

.....

.....

2/ Combien de fois est-il administré, quand et pourquoi à ces moments-là ?

.....

.....

.....

.....

3/ Quelles sont les voies d'injections utilisées dans ce protocole ?

.....

.....

.....

4/ Donner deux autres voies d'injection possible chez les rongeurs ?

.....
.....

Q.12 Indiquer le nom des 10 organes numérotés dans le schéma ci-dessous.

