

**CONCOURS EXTERNE D'ACCES AU CORPS DES
TECHNICIEN-NES DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DU MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR, DE LA RECHERCHE ET DE
L'INNOVATION**

B.A.P. A

Emploi-type : Technicien-ne biologiste

Epreuve unique écrite

Date : 9 juillet 2020

Durée : 3 heures

Coefficient : 1

Le sujet comporte 37 pages.

Veillez vérifier en début d'épreuve s'il est complet et signaler toute anomalie.

Toutes les réponses aux questions doivent être portées directement sur le sujet. Vous répondrez aux questions en respectant les emplacements réservés à cet effet et en soignant la présentation. Vous devez écrire à l'encre bleue ou noire (sont interdits l'encre de couleur rouge, verte et le crayon à papier).

L'usage des téléphones portables et autres objets connectés est strictement interdit.

L'usage des calculatrices programmables est strictement interdit.

L'usage de la calculatrice de poche non programmable est autorisé et sera contrôlé le jour de l'épreuve.

Aucun document n'est autorisé

/!\ Il est interdit aux candidats de signer leur composition ou d'y mettre un signe quelconque pouvant indiquer sa provenance.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

SOMMAIRE

Première partie : COMPÉTENCES GÉNÉRALES

A) Questions générales.....	58 points
B) Préparation d'une séance de travaux pratiques.....	50 points
C) Sécurité.....	30 points

Deuxième partie : CONNAISSANCES GÉNÉRALES

A) Chimie et biochimie.....	44 points
B) Enzymologie.....	20 points
C) Biologie moléculaire.....	80 points
D) Biologie cellulaire.....	20 points
E) Microbiologie – Virologie.....	60 points

Total Barème : 362 points

CONCOURS Externe d'accès au corps des TECHNICIEN-NES de recherche et de formation du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation en

BAP A

Emploi type : technicien-ne biologiste

- Session 2020 -

Nom :

Nom de Jeune Fille :

Prénom :

Né(e) le : ✂

CONCOURS Externe d'accès au corps des TECHNICIEN-NES de recherche et de formation du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation en

BAP A

Emploi type : technicien-ne biologiste

- Session 2020 -

Première partie : COMPÉTENCES GÉNÉRALES

Note : / 20

A) Questions générales

1. Donner la signification des abréviations suivantes :

CPG :

ADN :

EPC :

INRAE :

2. Questions courtes autour de la pratique expérimentale

a- Indiquer le principe de base de l'électrophorèse.

b- Préciser les caractéristiques de la balance utilisée pour peser $0,9 \pm 0,5$ mg.

c- Calculer la masse de chlorure de sodium à peser pour préparer 600 mL d'une solution à 0,9%.

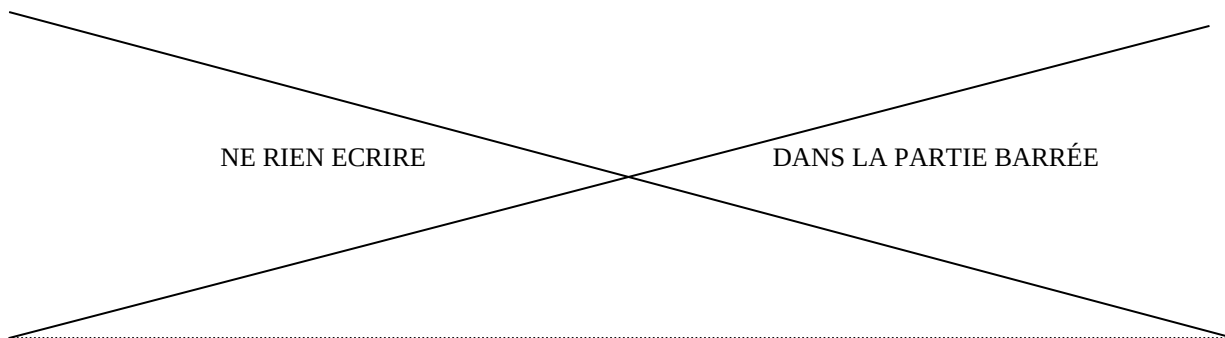
d- Préciser le type de pipette nécessaire pour prélever 70 μ L d'une solution.

e- Indiquer quel solvant est utilisé pour calibrer une pipette automatique.

f- Calculer le volume d'eau à ajouter dans un tube contenant 1mL d'une solution mère à 25 mg.mL^{-1} pour obtenir une concentration finale de 1g.L^{-1} .

g- Donner le rôle principal d'une solution tampon.

h- Citer la précaution la plus importante à prendre lors de la préparation d'une solution diluée d'acide à partir d'une solution concentrée.



- i- Citer la famille de macromolécules qui absorbe à 260 nm.
- j- Calculer le pourcentage d'humidité d'un échantillon biologique ayant une masse initiale de 400 g qui, après séchage 24 h à 103°C, pèse 100 g.
- k- Indiquer le mode de stérilisation d'un milieu de culture contenant du sérum de veau fœtal.
- l. Citer la catégorie d'enzyme qui permet la ligature de fragments d'ADN.
- m- Citer le couple de bases azotées qui, lors de leur appariement, forment deux liaisons hydrogène.
- n- Indiquer le type d'équipement(s) adapté à la manipulation stérile d'une culture de bactérie non pathogène.
- o- Indiquer, dans la colonne 2 du tableau ci-dessous, la famille de molécules qui correspond à la molécule de la colonne 1.
- Famille de molécules : Glucides, Lipides, Protides, Acides nucléiques

Colonne 1	Colonne 2
Amidon	
Triglycéride	
Maltose	
Glycine	
Lysine	
Acide linoléique	
Ribose	
ADN	

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

3. Conversions

a) Convertir :

- $0,04512 \text{ g.L}^{-1}$ en $\mu\text{g.L}^{-1}$
- $4,2 \times 10^{-6} \text{ mg}$ enKg
- $6,4 \times 10^{-2} \text{ mL}$ en dm^3 (on donne $1 \text{ L} = 1 \text{ dm}^3$)

b) Un technicien doit réaliser 10 mL d'une dilution au 1/100 en eau distillée d'une solution d'acide sulfurique $0,24 \text{ mol.L}^{-1}$. Il dispose du matériel suivant :

- 4 mL d'une solution non diluée d'acide sulfurique à $0,24 \text{ mol.L}^{-1}$
- Micropipette 1000 μL permettant de pipeter de 100 μL à 1000 μL
- 15 mL d'eau distillée
- Pipette graduée de 10 mL (graduation de 0,1 mL)
- Bécher de 20 mL

Expliquer comment réaliser la dilution en précisant les calculs.

4. Classer dans l'ordre croissant

2,5
 $3 \cdot 10^{-3}$
 $\frac{5}{4}$
 $0,03 \cdot 10^2$
 $\frac{3}{4}$
 $2,5 \cdot 10^{-1}$

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

5. Compléter le tableau en indiquant le nom du produit ou la formule chimique.

Nom du produit	Formule chimique
	$C_3H_8O_3$
Acide sulfurique	
Soude	
	CH_3COOH

6. Test ELISA

a- Donner la signification de cet acronyme.

b- Citer deux étapes essentielles pour réaliser correctement ce test.

c- Présenter, sous forme de schéma annoté, le principe d'un sérodiagnostic par test ELISA sandwich direct. Seul, le schéma de fin de réaction est demandé.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

7. Au laboratoire

Comment s'assurer de la traçabilité et de la valorisation des travaux effectués au sein du laboratoire ?

8. Organisation du laboratoire

Vous prenez vos fonctions dans un laboratoire peu organisé : des produits chimiques et des réactifs sont éparpillés dans différents laboratoires. Votre fiche de poste indique que vous êtes maintenant en charge de la gestion des commandes.

Vous devez commander les produits en rupture, comment vous assurer que ces produits soient réellement en rupture ?

Comment procéder pour réaliser une commande ?

Développer ces points et proposer des pistes d'amélioration.

DANS LA PARTIE BARRÉE

Vous êtes en charge de la préparation des travaux pratiques de microbiologie. Une promotion de 36 étudiants est divisée en 2 groupes. Chaque groupe assistera à une séance de 4h de TP. Les deux séances seront réalisées dans la même journée (matin puis après-midi). Les étudiants travailleront en binôme. Durant la séance, les étudiants devront réaliser des dénombrements de différentes souches de *Saccharomyces cerevisiae* en cours de croissance dans du milieu liquide YPD (Yeast-Peptone-Dextrose).

- dénombrement des cellules totales viables et non viables sur cellule hématimétrique de Thoma ou Malassez ;
- estimation théorique de la population totale par spectrophotométrie ;
- dénombrement des levures cultivables par étalement sur milieu YPD-agar après dilution décimale en microtubes de 1,5 mL.

- Page 8 sur 37

NE RIEN ECRIRE

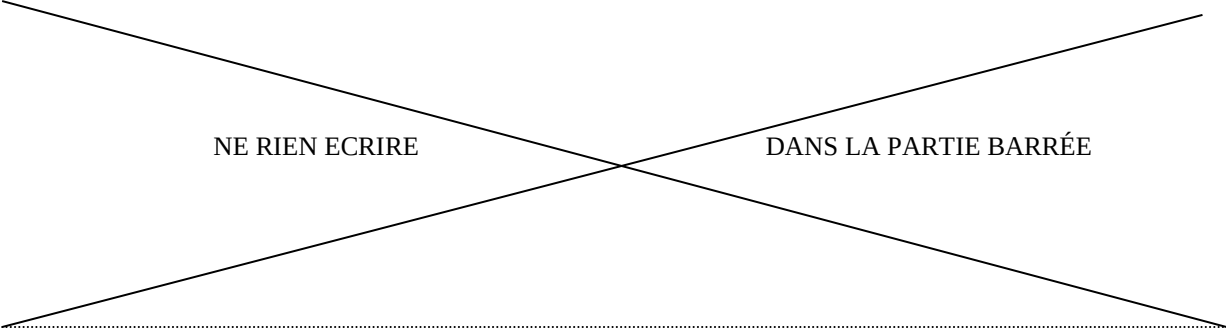
DANS LA PARTIE BARRÉE

4. Énoncer le principe d'un comptage sur cellule hématimétrique et les grandes lignes de la réalisation pratique.

5. Préciser la longueur d'onde choisie pour réaliser une estimation de la population par spectrophotométrie.

6. Détailler l'ensemble des étapes nécessaires pour réaliser cette estimation spectrophotométrique sachant que les levures sont en suspension en milieu YPD liquide.

Les étudiants doivent ensuite réaliser un dénombrement par étalement sur milieu YPD agar après dilutions décimales. Ils disposent de 3 boîtes de Petri par binôme contenant chacune 20 mL de milieu YPD-agar (Glucose 20 g.L⁻¹, extrait de levure 5 g.L⁻¹, Tryptone 10 g.L⁻¹, Chloramphénicol 0,2 g.L⁻¹, Agar-Agar 15 g.L⁻¹, pH 6,1).



NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

7. Calculer la quantité de milieu YPD-Agar à préparer.

8. Indiquer le rôle du chloramphénicol.

9. Énoncer toutes les étapes de la préparation des boîtes de Petri coulées pour cette séance.

10. Présenter un test de stérilité et de validation du milieu de culture.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Le technicien doit réaliser le contrôle de la culture de levure avant la séance. Pour cela, un dénombrement sur cellule hématimétrique (ou cellule de comptage) est réalisé. Le résultat de cette estimation est de $6,0 \cdot 10^6$ UFC.mL⁻¹. Cette valeur permet de calculer les dilutions décimales à réaliser pour effectuer un dénombrement sur milieu YPD-Agar en surface (100µL de dilution étalée) en se limitant à 3 boîtes et donc 3 dilutions.

11. Indiquer le matériel nécessaire pour réaliser les dilutions décimales.

12. Calculer les dilutions à étaler (justifier le calcul).

13. Définir l'unité UFC.mL⁻¹.

14. Indiquer la température optimale de croissance des levures comme, par exemple, l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*.

15. Préciser le mode de conservation de la souche utilisée pour la prochaine promotion d'étudiants.

16. Proposer d'autres suggestions pour préparer cette séance.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

C) Sécurité

1. Donner la signification des pictogrammes suivants :



2. Définir un produit CMR.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

3. Associer le produit et ses conditions de manipulation.

	Paillasse	Sorbonne	PSM
Culture cellulaire primaire			
Mercapto-éthanol			
Suspension de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>			
Formol			
Prélèvement de tissu animal			
Tampon PBS			
Acide sulfurique			
<i>Phosphatase alcaline</i>			

4. Indiquer, à l'aide d'une croix, la nature de chacun des produits et le rangement approprié. Une ou plusieurs croix sont possibles

	Poisons	Solvants	Acides	Bases	Produits chimiques ordinaires	Réfrigérateur	Congélateur
Acide acétique glacial							
Penicilline G (store dry at 4°C)							
Acétone							
D-Alanine							
Phénol							

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

5. Indiquer quels appareils sont sujets à contrôle réglementaire périodique parmi ceux présents dans la liste suivante : pH-mètre, sorbonne, centrifugeuse, PSM, autoclave, pipette à piston, microscope, incubateur CO₂.

6. Stérilisation

a- Indiquer la fonction d'un autoclave.

b- Indiquer si une autorisation particulière est requise pour manipuler un autoclave.

c- Préciser le mode de stérilisation d'un produit thermosensible.

d- Indiquer les moyens permettant de vérifier la bonne conduite d'une stérilisation.

e- Dénommer le responsable de la gestion des questions d'hygiène et de sécurité dans une université et indiquer ses principales fonctions.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Deuxième partie : CONNAISSANCES GÉNÉRALES

A) Chimie et biochimie

1. Préparation d'une gamme d'étalonnage d'acide éthanoïque

L'acide éthanoïque est un acide monocarboxylique avec une chaîne carbonée théorique en C2, analogue à l'éthane, de masse molaire 60 g.mol^{-1} .

Son acidité est caractérisée en solution aqueuse par un $\text{pK}_a = 4,76$.

Données :

Masse molaire

C = 12 g.mol^{-1}

H = 1 g.mol^{-1}

O = 16 g.mol^{-1}

a- Écrire la formule développée de l'acide éthanoïque.

b- Écrire la formule semi-développée lorsqu'une solution d'acide éthanoïque est à $\text{pH} = 2$.

c- Écrire la formule semi-développée lorsqu'une solution d'acide éthanoïque est à $\text{pH} = 7$.

d- Calculer la masse à peser pour préparer 250 mL d'une solution à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ d'acide éthanoïque à partir du composant solide (détailler les calculs).

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Cette solution préparée va servir à préparer une gamme étalon. Le protocole est le suivant :

- Introduire stérilement 200 μL d'eau distillée stérile dans les tubes 1 à 5.
- Introduire 200 μL d'acide éthanoïque ($C = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) dans le tube 1.
- Introduire 200 μL d'acide éthanoïque ($C = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) dans le tube 2.
- Homogénéiser délicatement le contenu du tube 2 (sans faire de bulles) par trois étapes d'aspiration-refoulement.
- Introduire alors 200 μL de ce mélange dans le tube suivant.
- Éliminer le cône.
- Répéter les trois précédentes étapes pour les tubes 3 et 4.
- Éliminer 200 μL du tube 5.

Tubes	1	2	3	4	5
Eau distillée stérile (μL)	0	200	200	200	200
Acide éthanoïque $C = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (μL)	200	200			
Volume à redistribuer (μL)	0	0	200	200	200

e- Calculer la concentration finale en acide éthanoïque dans le tube 4.

2) Préparation de solutions

a- Calculer le volume d'eau distillée à ajouter à 40 mL d'une solution d'acide chlorhydrique de $\text{pH} = 1,7$ pour obtenir une solution de $\text{pH} = 2,4$. La réponse sera donnée au mL près.

Dans le cadre d'une séance de travaux pratiques, il est demandé de préparer 500 mL d'une solution tampon dont la composition est la suivante :

- 150 mM NaCl
- 0,1% SDS
- 40mM Tris
- Cocktail d'inhibiteurs de protéases
- $\text{pH} 7,4$

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

b- Nommer et donner le rôle de ces différents constituants dans le tableau suivant :

	Nom	Rôle
NaCl		
SDS		
Tris		
Inhibiteurs de protéases		

c- Expliquer de façon précise les différentes étapes (calculs, matériels utilisés, technique) permettant de préparer la solution demandée.

Matériel à disposition :

- Une solution de NaCl à 1M
- Une solution de SDS à 10%
- Tris en poudre (MW = 120)
- HCl concentré 37%
- Une solution de cocktail d'inhibiteurs 100X

NE RIEN ECRIRE

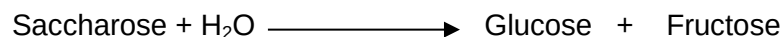
DANS LA PARTIE BARRÉE

d- Indiquer dans quel but cette solution tampon est couramment utilisée.

B) Enzymologie

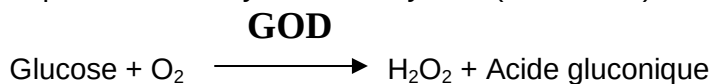
1. Saccharase

La Saccharase ou Invertase est une enzyme qui catalyse la réaction de clivage de la molécule de Saccharose en un mélange équimolaire de Glucose et Fructose appelé sucre inverti. Son K_m pour le saccharose est $K_m = 25 \text{ mM}$.



Cette enzyme, utilisée en industrie sucrière, est naturellement produite par la levure de boulangerie *S. cerevisiae* qui la secrète dans son milieu de culture. On s'intéresse ici à un processus de purification de cette enzyme à partir d'un surnageant de culture de levure.

Au cours d'une cinétique enzymatique impliquant cette enzyme, la transformation du saccharose en sucre inverti peut être suivie par dosage du glucose à l'aide du kit de dosage enzymatique Glucose Oxydase-Peroxydase (GOD POD).

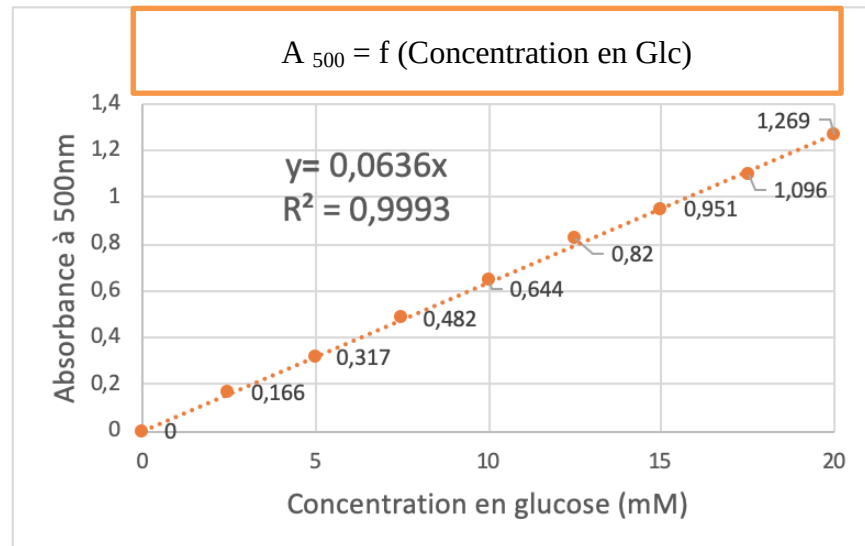


En pratique, le dosage est réalisé par ajout de $10 \mu\text{L}$ de la solution à doser dans 1 mL de réactif GOD/POD prêt à l'emploi. Après 10 minutes d'incubation, le produit final coloré de ces deux réactions absorbe à 500 nm et peut être dosé au spectrophotomètre. La concentration en glucose de la solution à doser est déterminée par étalonnage à l'aide de différentes solutions standard de glucose traitées de la même manière. Lors de cet étalonnage on obtient la courbe suivante (page 19).

Déterminer la valeur en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$ du coefficient k reliant la valeur de la concentration en glucose de la solution dosée et celle d'une mesure d'absorbance à 500 nm .

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE



2. Production de protéine bactérienne

On réalise la production d'une protéine bactérienne à activité enzymatique par culture d'une souche microbienne en bioréacteur. Après culture, un culot microbien de culture est lysé dans 10 mL de tampon d'extraction et les protéines solubilisées sont récupérées par centrifugation (fraction PS).

L'extrait PS est utilisé pour réaliser une cinétique enzymatique en utilisant un substrat S synthétique incolore transformé mole à mole par l'enzyme en un produit coloré, absorbant à 500nm avec un coefficient d'extinction molaire de $\epsilon = 4580 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à la longueur d'onde de travail. La réaction suivie est réalisée à température ambiante dans un volume V_R comprenant :

- 1,5 mL de tampon de réaction.
- 0,4 mL de substrat incolore de l'enzyme à 0,1M.
- $V_e = 0,1 \text{ mL}$ d'extrait enzymatique dilué au 1/100 dans le tampon de

réaction.

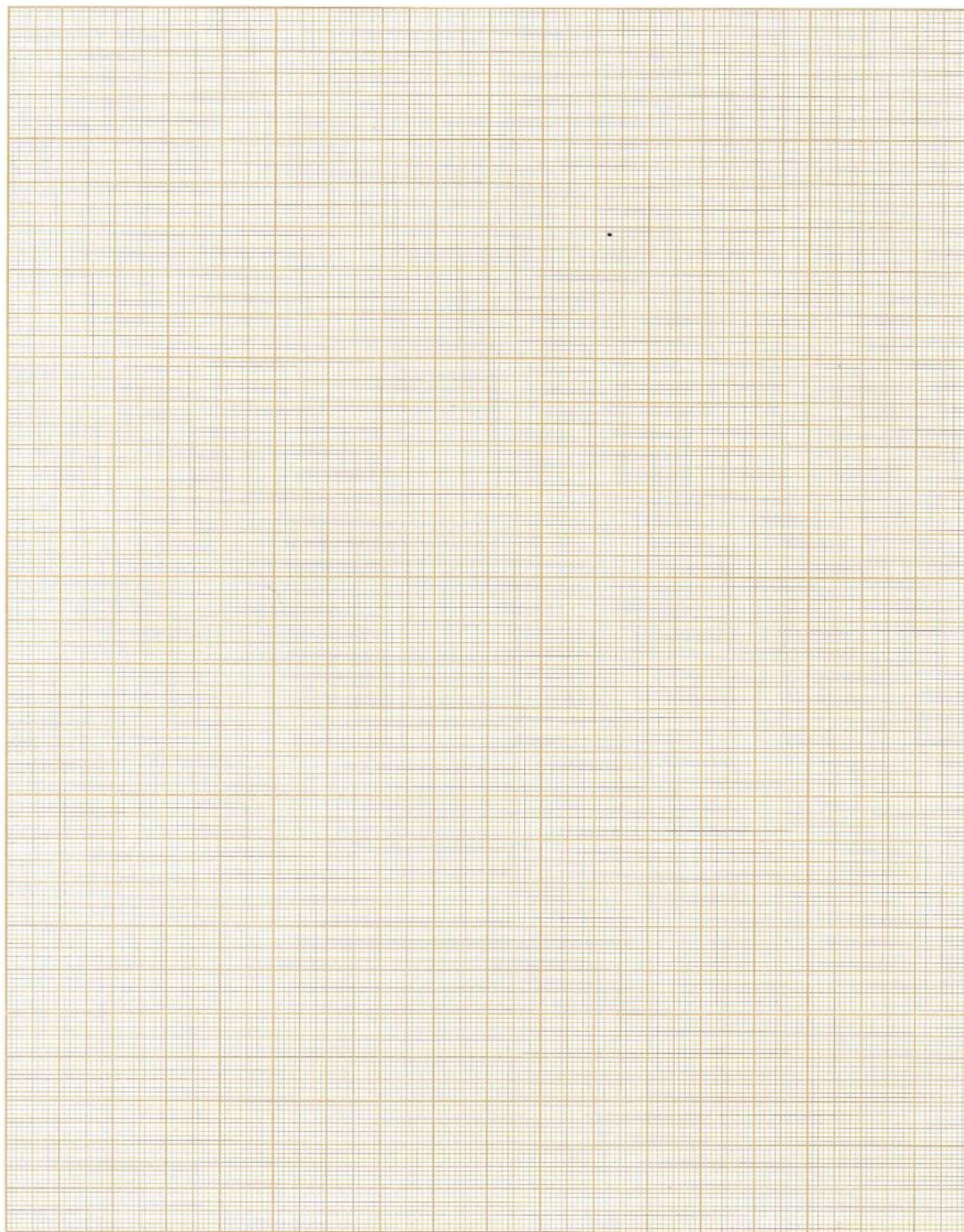
L'absorbance à la longueur d'onde de travail du milieu réactionnel est régulièrement mesurée dans la réaction au cours du temps et les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Temps (min)	0	1	2	3	4	5	6	8	10
Absorbance	0	0,093	0,194	0,275	0,370	0,455	0,531	0,614	0,733

Déterminer, à l'aide de la feuille de papier millimétré fournie ci-dessous, le temps pour lequel la réaction se trouve dans des conditions de vitesse initiale. Calculer cette vitesse V_i en s^{-1} à l'aide des valeurs du tableau précédent.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE



NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

C) Biologie moléculaire

1. Recherche d'un contaminant par PCR

Le laboratoire souhaite mettre en évidence la présence ou l'absence de la moisissure toxigène *Penicillium expansum* dans des échantillons de purées de pommes. Pour atteindre cet objectif, la technique de la PCR est utilisée en ciblant le gène patE (gène de la voie de biosynthèse de la patuline (mycotoxine)).

La première opération consiste en l'extraction de l'ADN des purées de pommes selon le protocole présenté en page 22.

a- Faire un résumé en français de ce protocole.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Notes before starting

- Perform all centrifugation steps at room temperature (15–25°C).
 - If necessary, redissolve any precipitates in Buffer AP1 and Buffer AW1 concentrates.
 - Add ethanol to Buffer AW1 and Buffer AW2 concentrates.
 - Preheat a water bath or heating block to 65°C.
1. Disrupt samples (≤ 100 mg wet weight or ≤ 20 mg lyophilized tissue) using the TissueRuptor®, the TissueLyser II or a mortar and pestle.
 2. Add 400 μ l Buffer AP1 and 4 μ l RNase A. Vortex and incubate for 10 min at 65°C. Invert the tube 2–3 times during incubation.
Note: Do not mix Buffer AP1 and RNase A before use.
 3. Add 130 μ l Buffer P3. Mix and incubate for 5 min on ice.
 4. **Recommended:** Centrifuge the lysate for 5 min at 20,000 $\times g$ (14,000 rpm).
 5. Pipet the lysate into a QIAshredder spin column placed in a 2 ml collection tube. Centrifuge for 2 min at 20,000 $\times g$.
 6. Transfer the flow-through into a new tube without disturbing the pellet if present. Add 1.5 volumes of Buffer AW1, and mix by pipetting.
 7. Transfer 650 μ l of the mixture into a DNeasy Mini spin column placed in a 2 ml collection tube. Centrifuge for 1 min at $\geq 6000 \times g$ (≥ 8000 rpm). Discard the flow-through. Repeat this step with the remaining sample.
 8. Place the spin column into a new 2 ml collection tube. Add 500 μ l Buffer AW2, and centrifuge for 1 min at $\geq 6000 \times g$. Discard the flow-through.
 9. Add another 500 μ l Buffer AW2. Centrifuge for 2 min at 20,000 $\times g$.
Note: Remove the spin column from the collection tube carefully so that the column does not come into contact with the flow-through.
 10. Transfer the spin column to a new 1.5 ml or 2 ml microcentrifuge tube.
 11. Add 100 μ l Buffer AE for elution. Incubate for 5 min at room temperature (15–25°C). Centrifuge for 1 min at $\geq 6000 \times g$.
 12. Repeat step 11.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Le laboratoire dispose d'une centrifugeuse équipée d'un rotor de 24 places.

b- Estimer le temps nécessaire à l'extraction d'ADN de 10 échantillons.

c- Indiquer comment vérifier la quantité et la qualité de l'ADN extrait.

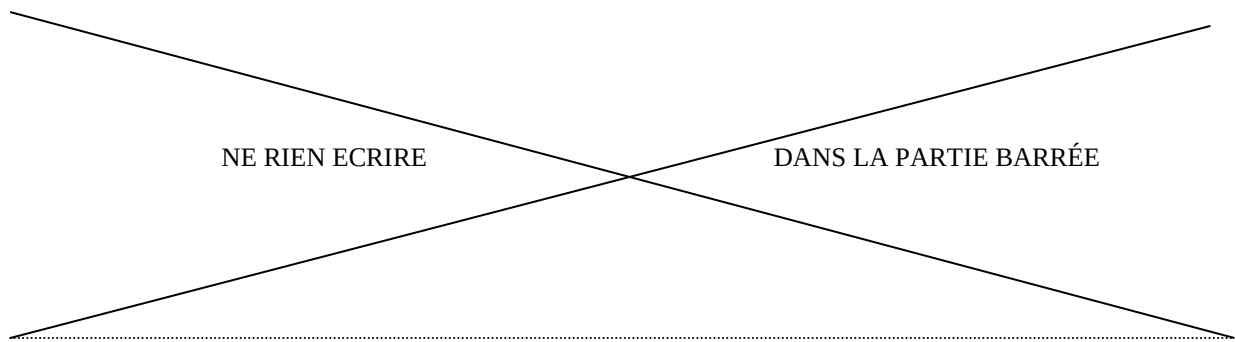
Afin de pouvoir mettre en œuvre ensuite la réaction de PCR, le mix ou mélange réactionnel doit être réalisé à partir des solutions et réactifs suivants :

- une solution de MgCl_2 à 25 mM
- un mélange de dNTP à 10 mM
- amorces Forward et Reverse en solution à 100 μM
- tampon Go taq 5X
- Taq polymérase à 5 $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$
- ADN (témoin / ou échantillon) 200 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$
- eau MilliQ pour réaliser les dilutions nécessaires.
- micropipettes de 200-1000 μL , 20-200 μL , 2-20 μL et 0,2-10 μL et cônes DNase free
- microtubes DNase free de 1,5 mL
- microtubes PCR de 0,2 mL

d- Calculer le volume de chaque constituant à introduire par microtube de PCR pour obtenir les **concentrations finales** suivantes :



- ▶ μL Tampon Go taq **1X**
 - ▶ μL MgCl_2 **1,5 mM**
 - ▶ μL dNTPs **0,2 mM**
 - ▶ μL Amorce Forward **1 μM**
 - ▶ μL Amorce Reverse **1 μM**
 - ▶ μL Taq polymérase **1,25 U**
 - ▶ μL ADN **50 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$**
 - ▶ μL H_2O
- QSP 50 μL /microtube



e- Indiquer comment préparer ce « mix PCR » sachant que 10 échantillons doivent être analysés.

f- Nommer les paramètres à programmer sur le thermocycleur.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Deux échantillons, c'est-à-dire deux des produits issus de la PCR, sont déposés sur gel d'agarose, puis la migration des produits PCR est réalisée par électrophorèse. Le gel est ensuite observé sous UV. Le résultat (figure ci-dessous) est observé (les amorces Forward_PatE et Reverse_PatR permettent la formation d'un produit PCR de 92 pb).

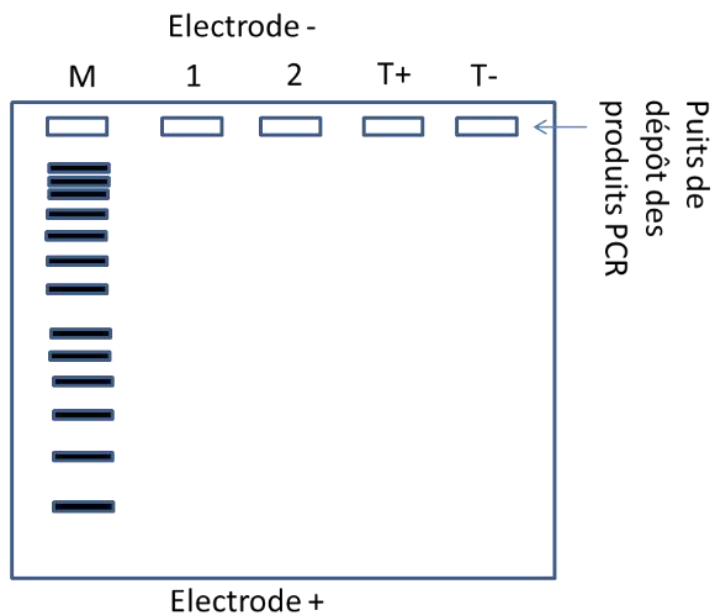
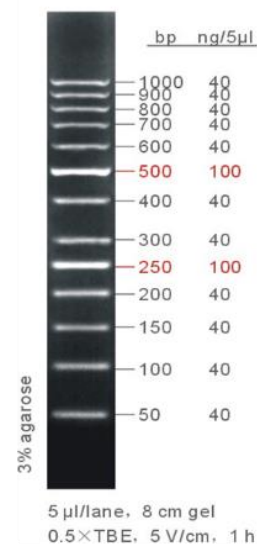


Figure 1 : Gel d'agarose 3% observé sous UV après migration de différents échantillons (M : Marqueur de taille ; 1 : Produit PCR issu du lot n°1 de purée de pomme ; 2 : Produit PCR issu du lot n°2 de purée de pomme. T+ : contrôle positif, T- : contrôle négatif)

50bp ladder plus M1051/M1052



Données techniques concernant le marqueur de taille M utilisé lors de l'électrophorèse présentée Figure 1

g- Interpréter ce résultat sachant que le protocole de préparation du mix et le programme PCR ont été précédemment validés. Proposer des solutions.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Un autre technicien plus expérimenté réalise à nouveau la PCR et l'électrophorèse sur gel en utilisant les mêmes réactifs. Il obtient le résultat (figure ci-dessous).

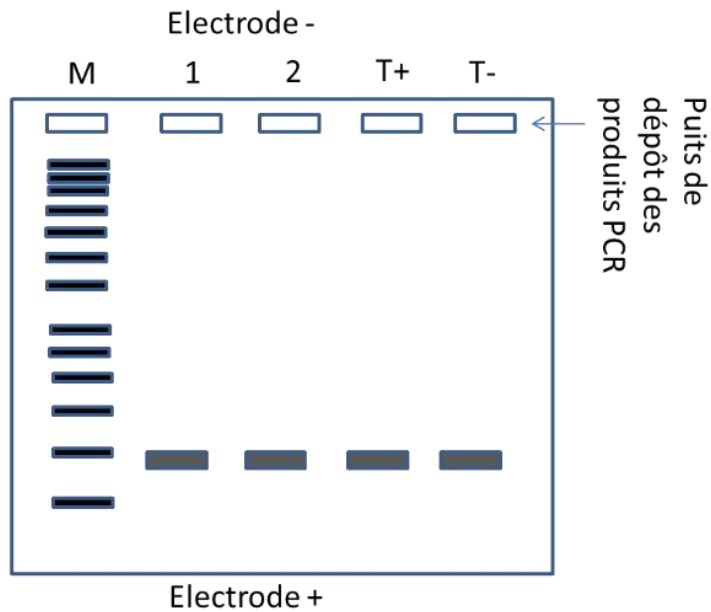
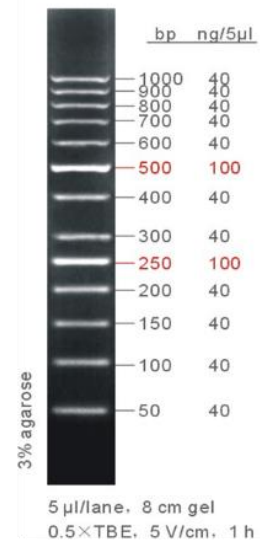


Figure 2 : Gel d'agarose 3% observé sous UV après migration de différents échantillons (M : Marqueur de taille ; 1 : Produit PCR issu du lot n°1 de purée de pomme ; 2 : Produit PCR issu du lot n°2 de purée de pomme. T+ : contrôle positif, T- : contrôle négatif)

50bp ladder plus M1051/M1052



Données techniques concernant le marqueur de taille M utilisé lors de l'électrophorèse présentée Figure 2

h- Interpréter ces résultats et conclure.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Après avoir identifié et résolu les différents problèmes rencontrés précédemment, une nouvelle PCR est réalisée le surlendemain. Après électrophorèse, le résultat suivant est obtenu.

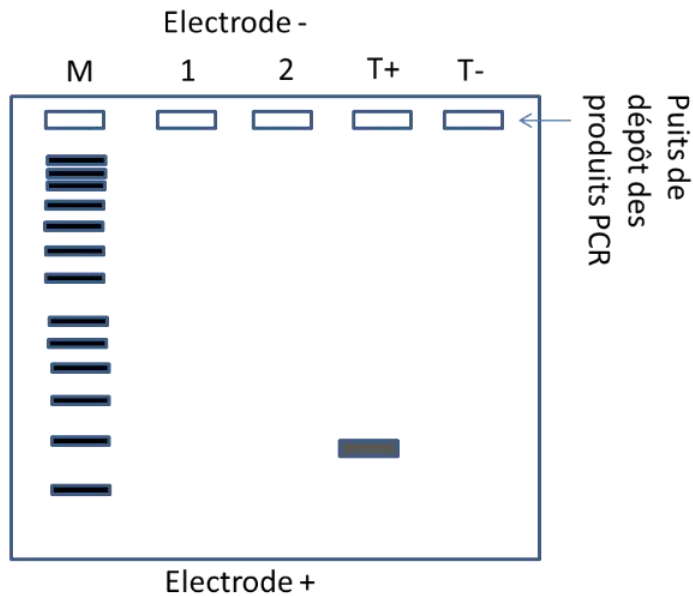
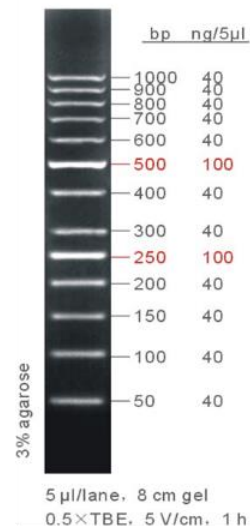


Figure 3 : Gel d'agarose 3% observé sous UV après migration de différents échantillons (M : Marqueur de taille ; 1 : Produit PCR issu du lot n°1 de purée de pomme ; 2 : Produit PCR issu du lot n°2 de purée de pomme. T+ : contrôle positif, T- : contrôle négatif)

50bp ladder plus M1051/M1052



Données techniques concernant le marqueur de taille M utilisé lors de l'électrophorèse présentée Figure 3

i- Interpréter ces résultats et conclure.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

2. Amplification de séquences microsatellites

Un microsatellite est une séquence très courte fortement répétée dans le génome. Le nombre de répétition du motif à une même position dans l'ADN génomique est très variable selon les différents individus qui composent une population.

- a - Situer (en la soulignant) la séquence microsatellite sur la figure 1, page 28.
- b - Donner les séquences (dans le sens 5'>3') de deux amorces de 15 nucléotides utilisables pour amplifier de façon spécifique le fragment d'ADN DS contenant ce microsatellite (sans prendre en compte leur température de fusion, ni la formation éventuelle de structure secondaire ou de dimère d'amorces). Justifier les réponses.
- c- Indiquer la position de ces séquences sur la figure 1 en soulignant la zone ciblée par chacune des amorces.
- d- Compléter la figure 2 (page 29) en donnant un exemple de résultat attendu après migration sur gel d'agarose des produits PCR effectuées avec les amorces proposées à la question 2b sur l'ADN de deux individus différents issus d'une même population (individu A : séquence d'ADN présentée figure 1 et individu B : séquence microsatellite deux fois plus longue que celle de l'individu A).

```
1  TTTTAAGTTA CTGTGTGCTT GTTGCAGGAT CTGTAATAA TTCCTATGCG ATTCTCTTGT
61  TTGTAGGGCG AAGATGAGGG AGATCCTGCA CATCCAGGGA GGGCAATGTG GCAACCAGAT
121 TGGCGCCAAG TTCTGGGAGG TGGTGTGCGA TGAACATGGC ATTGACCACA CACACACACA
181 CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA
241 CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA
301 CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACACACA CACACAACCG CCTCGGCCAT
361 TGCTGGTAAC AATTGGGCTA AGGGCCACTA CACCGAGGGT GCTGAGCTCA TTGACTCTGT
421 TCTGGATGTT GTGAGGAAGG AAGCTGAGAA CTGTGACTGC TTGCAAGGAT TCCAAGTATG
481 CCACTCCCTT GGTGGTGGTA CTGGATCTGG TATGGGTACG CTGTTGATCT CAAAGATCAG
```

Figure 1 : Séquence nucléotidique d'une portion d'ADN génomique
(seul le brin 5' => 3' est représenté).

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

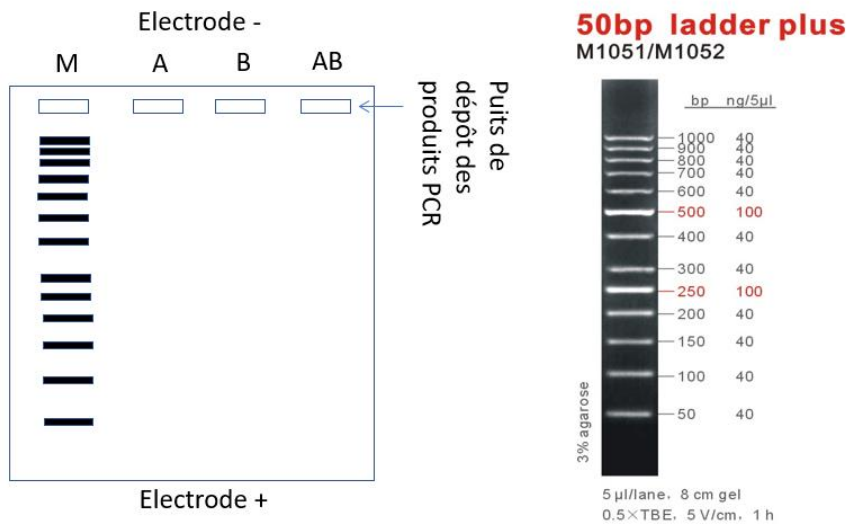


Figure 2 : Gel d'agarose 3% observé sous UV après migration de différents échantillons (M : Marqueur de taille; A : Produit PCR issu de l'ADN de l'individu A ; B : Produit PCR issu de l'ADN de l'individu B ; AB Produits PCR mélangés issus des ADN des individus A et B)

Données techniques concernant le marqueur de taille M utilisé lors de l'électrophorèse présentée Figure 2

D) Biologie cellulaire

1. Expliquer pourquoi l'entretien d'une culture cellulaire adhérente *in vitro* doit être réalisé.
2. Présenter et détailler les différentes étapes expérimentales qui permettent d'entretenir une lignée cellulaire adhérente *in vitro*. Indiquer l'intérêt des différentes étapes.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

3. Indiquer le type de microscope utilisé pour dénombrer les cellules. Présenter son principe de fonctionnement.

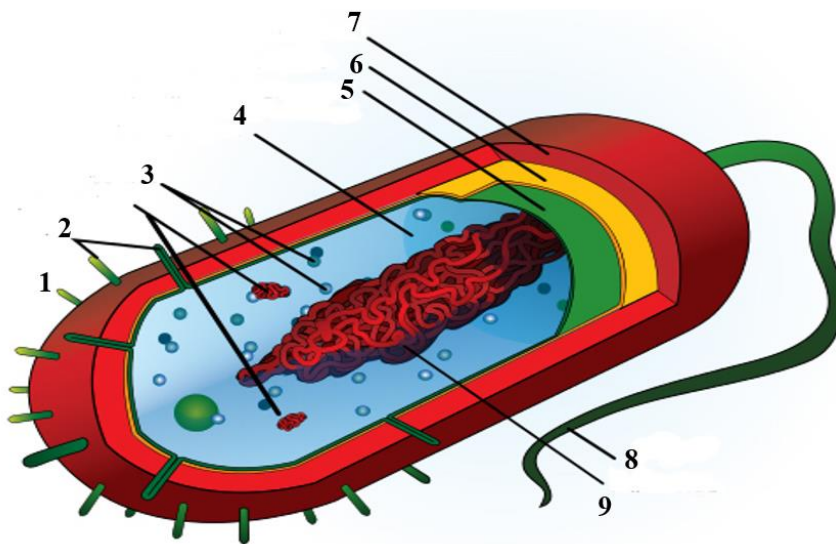
E) Microbiologie – Virologie

1. Morphologie

a- Annoter le schéma suivant, donner un titre et préciser l'échelle.

Titre :

Echelle : 1 cm =



1 :

2 :

3 :

4 :

5 :

6 :

7 :

8 :

9 :

b- Citer les annotations qui correspondent aux éléments obligatoires et aux éléments facultatifs de cette cellule

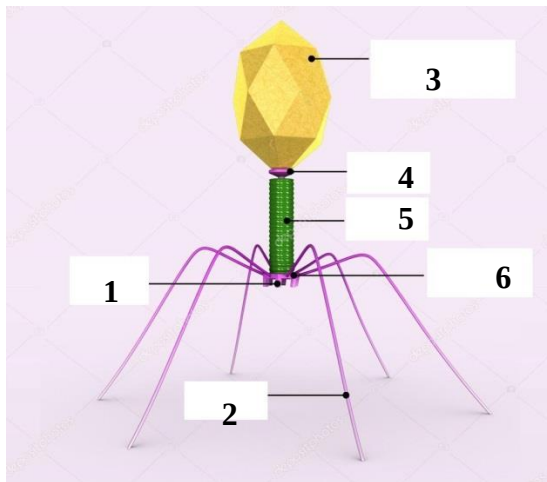
NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

c- Annoter le schéma suivant, donner un titre et préciser l'échelle.

Titre :

Echelle : 1 cm =



1 :

2 :

3 :

4 :

5 :

6 :

d- Nommer la cible de la structure présentée ci-dessus.

e- Indiquer le numéro correspondant à la structure qui contient l'acide nucléique.

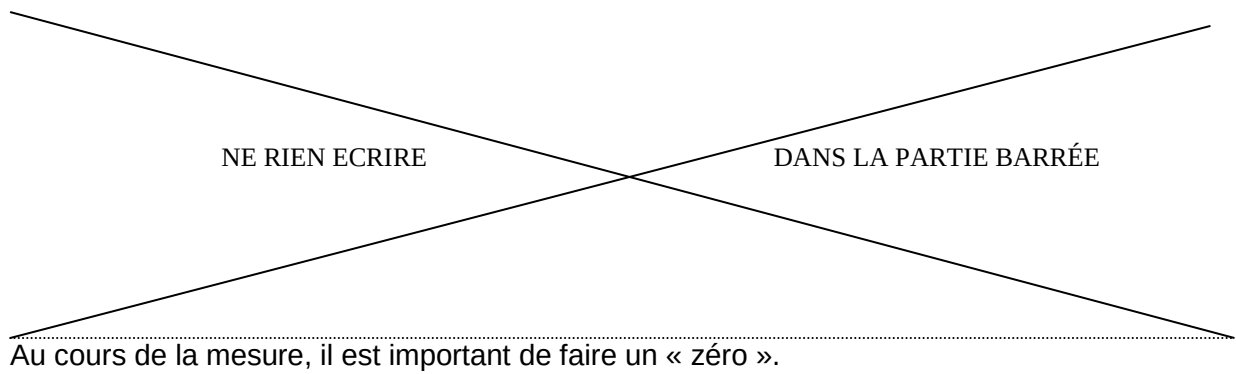
2. Croissance bactérienne

Une culture bactérienne est mise en culture dans un milieu de culture liquide (bouillon nutritif).

Toutes les 20 minutes environ, un prélèvement est effectué et une mesure du trouble de milieu est effectuée.

a- Citer le paramètre mesuré et son unité au cours de la mesure du trouble.

b- Citer l'appareil permettant cette mesure.

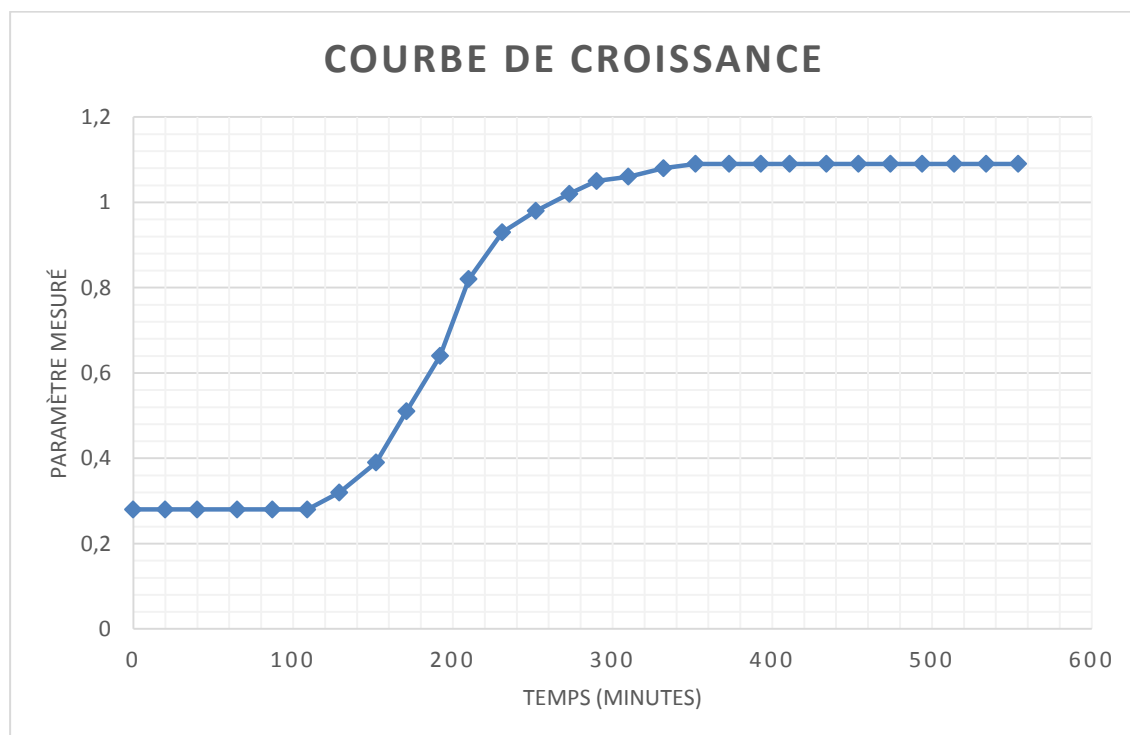


c- Expliquer l'intérêt de cette opération.

d- Préciser la constitution du milieu permettant de faire le « zéro ».

Les résultats de la croissance sont présentés sur le graphe ci-dessous

e- Positionner sur la courbe les différentes phases de croissance et les nommer.



NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

f- Expliquer le comportement des bactéries pendant la première phase.

Un volume de 100 mL d'une culture pure d'*Escherichia coli* en milieu liquide préalablement incubée 18h à 37°C est introduit dans une fiole d'Erlenmeyer contenant 900 mL de milieu glucosé.

Deux concentrations en glucose sont testées : milieu 1 à 1 g.L⁻¹ et milieu 2 à 50 g.L⁻¹

Environ toutes les 20 minutes, un prélèvement de 4 mL est effectué afin de réaliser différentes mesures.

Au temps t = 210 minutes, le dénombrement du milieu 1 par la technique d'ensemencement en surface sur milieu gélosé est effectué (volume ensemencé = 0,1 mL).

Les résultats sont les suivants :

Dilutions	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Nombre de colonies	>300	46	2

g- Calculer N en UFC.mL⁻¹ (exprimer avec l'intervalle de confiance).

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

Au même temps $t = 210$ minutes, une mesure de masse sèche du milieu 1 est effectuée selon le mode opératoire fourni en **annexe 1**, les résultats sont les suivants :

- Masse de la capsule vide = 3,4571g
- Masse de 2,00 mL de milieu de culture = 5,5672 g
- Masse après séchage à 100°C = 3,4614 g

h- Calculer la masse sèche de bactérie en g de matière sèche (MS).

i- Calculer la concentration en g de MS de bactéries. L^{-1}

Annexe 1 : Mesure de la masse sèche (MS)

Introduire une capsule contenant du sable de fontainebleau dans un dessiccateur pendant 24h.

Peser la capsule : Masse de la capsule vide.

Introduire, dans la capsule, 2 mL de culture bactérienne et peser à nouveau la capsule.

Introduire la capsule contenant les 2 mL de culture dans une étuve à 100°C pendant 24h.

Sortir la capsule et la laisser refroidir dans un dessiccateur.

Peser la capsule refroidie.

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARRÉE

3. Dosage de l'acidité d'un yaourt

Un yaourt, après fermentation par les espèces bactériennes *Streptococcus thermophilus*, qui provoque l'épaississement du yaourt et lui donne son arôme caractéristique, et *Lactobacillus bulgaricus* qui est responsable de la fermentation lactique et du goût acide du yaourt, est analysé par mesure du degré Dornic (dosage volumétrique par la soude).

La première étape consiste en la réalisation d'une suspension mère en broyant 8,63 g de yaourt dans 150 mL de diluant.

On assimilera 1g de yaourt à 1 mL de yaourt.

Mesure du degré Dornic (volume de la prise d'essai du yaourt = 10,00 g = 10,00 mL)

Données et résultats expérimentaux :

$C_{OH^-} = 0,1360 \text{ mol.L}^{-1}$

$V_{eq1} = 7,50 \text{ mL}$; $V_{eq2} = 7,65 \text{ mL}$; $V_{eq3} = 7,45 \text{ mL}$

$S_r = 0,045 \text{ g.L}^{-1}$; $U_c = 0,018 \text{ g.L}^{-1}$

CM Al (Concentration massique en Acide lactique), on donne :

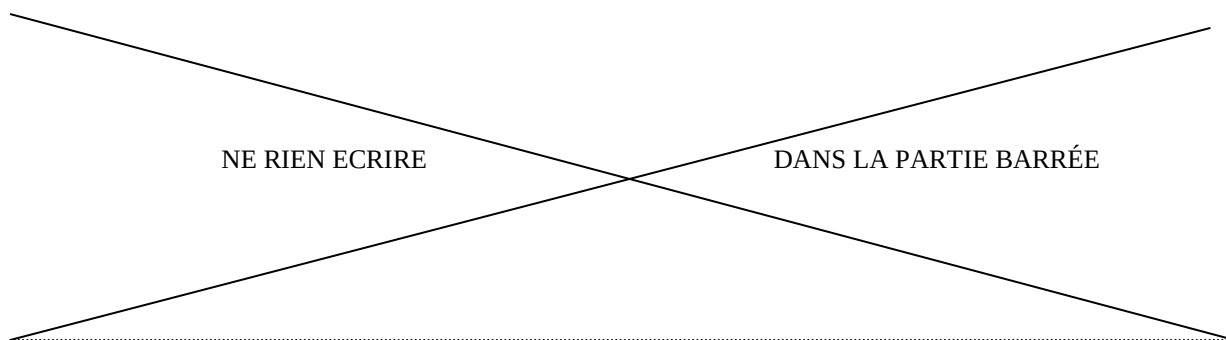
$$C_{MAI} = MM \times C_{Al} = MM \times \frac{C_{OH^-} \times V_{eq}}{PE} = 90 \times \frac{C_{OH^-} \times V_{eq}}{10}$$

CM Al en g.L^{-1} , V_{eq} en mL

1 degré Dornic = $0,1 \text{ g d'acide lactique.L}^{-1}$

Calculer le degré Dornic de la suspension mère du yaourt analysé.

L'**annexe 2** de métrologie (pages 36 et 37) est fournie comme guide pour l'acceptabilité et l'expression des résultats.



Annexe 2 : Acceptabilité des résultats et expression du résultat final

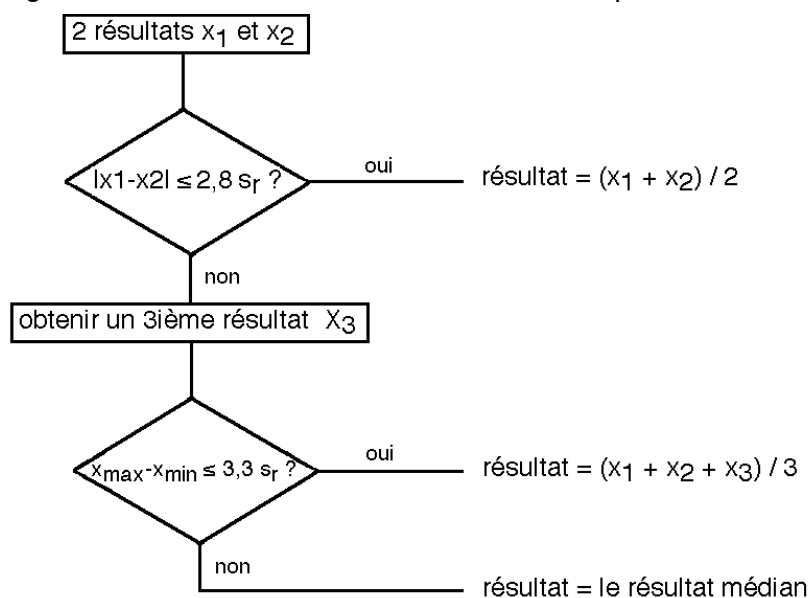
ACCEPTABILITÉ DES RÉSULTATS

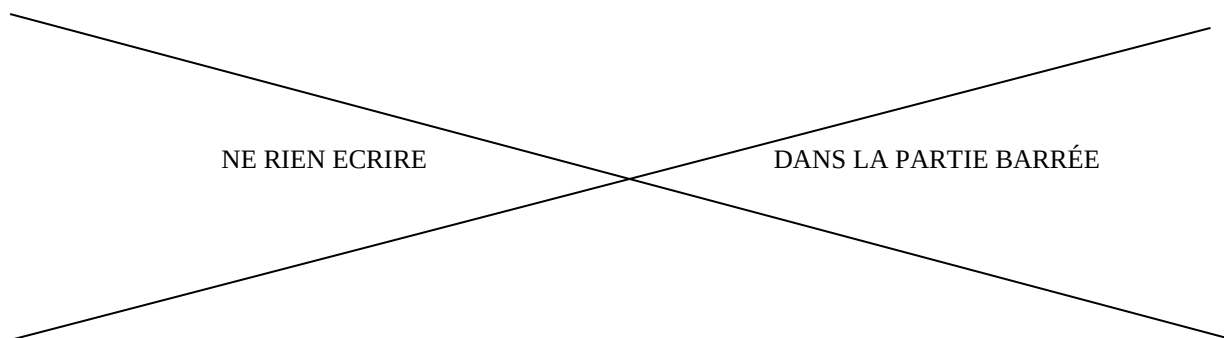
1. Contrôle d'acceptabilité à partir de deux ou trois résultats

1.1. Démarche

On donnera l'**écart-type de répétabilité** s_r (« r » minuscule) de la méthode aux alentours des valeurs mesurées.

Vous utiliserez donc l'écart-type de répétabilité pour contrôler l'acceptabilité de vos résultats en regardant si les écarts entre résultats sont acceptables selon le **logigramme** suivant :





1.2. Expression du résultat avec son incertitude

On dispose de la valeur retenue après validation des résultats expérimentaux (voir chapitre 1.1.)

1.2.1. Démarche

L'expression du résultat final nécessite de connaître l'**incertitude-type composée**. Pour atteindre un niveau de confiance d'environ 95 %, cette incertitude-type composée sera multipliée par le **facteur d'élargissement $k = 2$** , ce qui permet d'obtenir l'**incertitude élargie**. C'est elle qui est en général utilisée dans l'expression du résultat.

Le dernier chiffre significatif du résultat sera à la même position décimale que le dernier chiffre significatif de l'incertitude élargie.

Le nombre de chiffres significatifs retenu pour l'incertitude élargie sera, sauf cas contraire explicitement indiqué, identique à celui de l'incertitude-type composée. Pour l'incertitude type composée U_c et pour l'incertitude élargie U , il est recommandé de conserver un ou deux chiffres significatifs selon le cas :

- Si le premier chiffre est 1,2 ou 3 : garder DEUX chiffres significatifs
- Si le premier chiffre est 4 ou plus : garder UN SEUL chiffre significatif

1.2.2. Exemples

Premier exemple

Valeur retenue : $c_X = 0,225611 \text{ mol.L}^{-1}$; Incertitude-type composée fournie : $0,0008 \text{ mol.L}^{-1}$

Le compte-rendu indiquera :

- $U = 2 \times 0,0008 = 0,0016 \text{ mol.L}^{-1}$
- $c_X = 0,2256 \pm 0,0016 \text{ mol.L}^{-1} = 225,6 \pm 1,6 \text{ mmol.L}^{-1}$
- « L'incertitude élargie, calculée à l'aide d'un facteur d'élargissement 2, donne un niveau de confiance d'environ 95% ».

Second exemple

Valeur retenue : $c_X = 0,225611 \text{ mol.L}^{-1}$; Incertitude-type composée fournie : $0,0036 \text{ mol.L}^{-1}$

Le compte-rendu indiquera :

- $U = 2 \times 0,0036 = 0,0072 \text{ mol.L}^{-1}$
- $c_X = 0,226 \pm 0,007 \text{ mol.L}^{-1} = 226 \pm 7 \text{ mmol.L}^{-1}$
- « L'incertitude élargie calculée à l'aide d'un facteur d'élargissement 2, donne un niveau de confiance d'environ 95% ».