

DANS CE CADRE

Corps : _____
BAP : _____
Emploi type concours : _____
Centre organisateur : _____
NOM : _____

(En majuscule, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____

N° de table

Né(e) le : _____

(Le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

NE RIEN INSCRIRE

Corps : _____

BAP : _____

Emploi type concours : _____

Centre organisateur : _____

(Précisez, s'il y a lieu, le sujet choisi)

Numérotez chaque page (dans le cadre en bas de la page)
placez les feuilles intercalaires dans le bon sens si besoin.

Appréciation du correcteur (uniquement s'il s'agit d'un examen) :

Note :

20

UNIVERSITE MONTPELLIER 2

Concours externe d'assistant Ingénieur en techniques biologiques. B.A.P. A

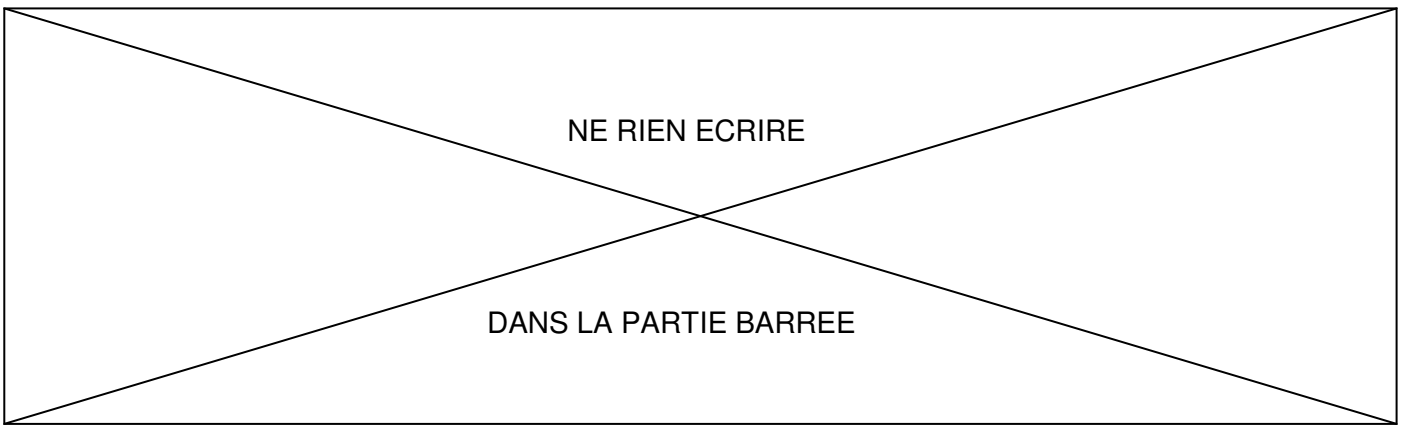
Session 2010

EPREUVE ECRITE D'ADMISSIBILITE

Mercredi 5 mai 2010
Durée : 3 heures Coefficient 4

Le sujet comporte 16 pages (non compris la page de garde)

Seul l'usage d'une calculette scolaire de base est autorisé



Répondre aux questions dans l'espace prévu à cet effet.

Culture générale

1 – La PCR

1a) Que signifie PCR ? (2 lignes maximum)

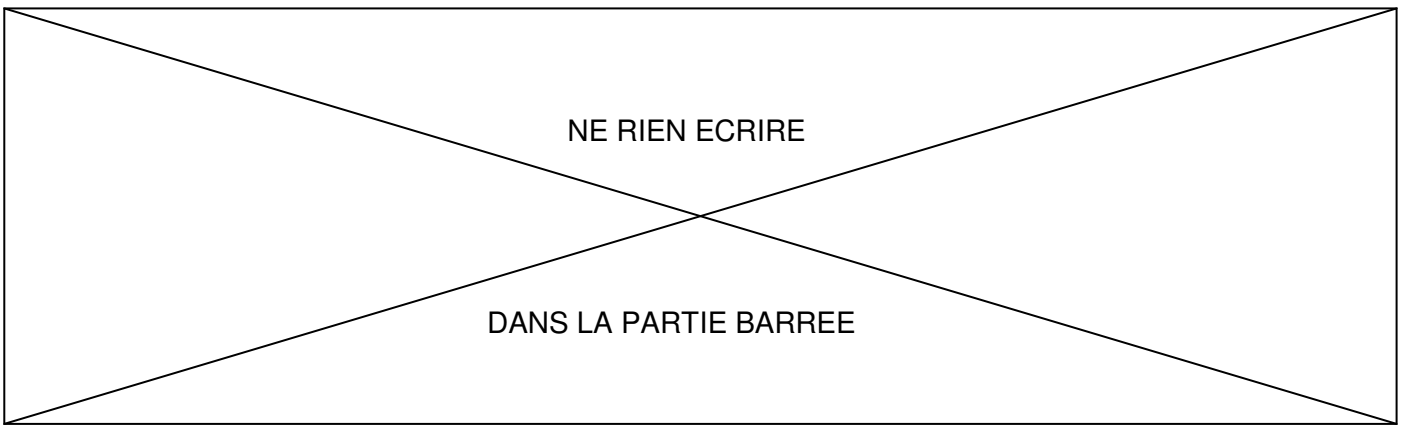
1b) Quelles sont les trois étapes d'une PCR ? A quoi servent-elles ? (6 lignes maximum)

1c) Qu'est-ce le T_m ? Comment le calcule-t-on ? (5 lignes maximum)

1d) Citez les principales méthodes de marquage dans une réaction de PCR en temps réel. (2 lignes maximum)

2 – Le Western blot

2a) Qu'est-ce qu'un Western blot ?

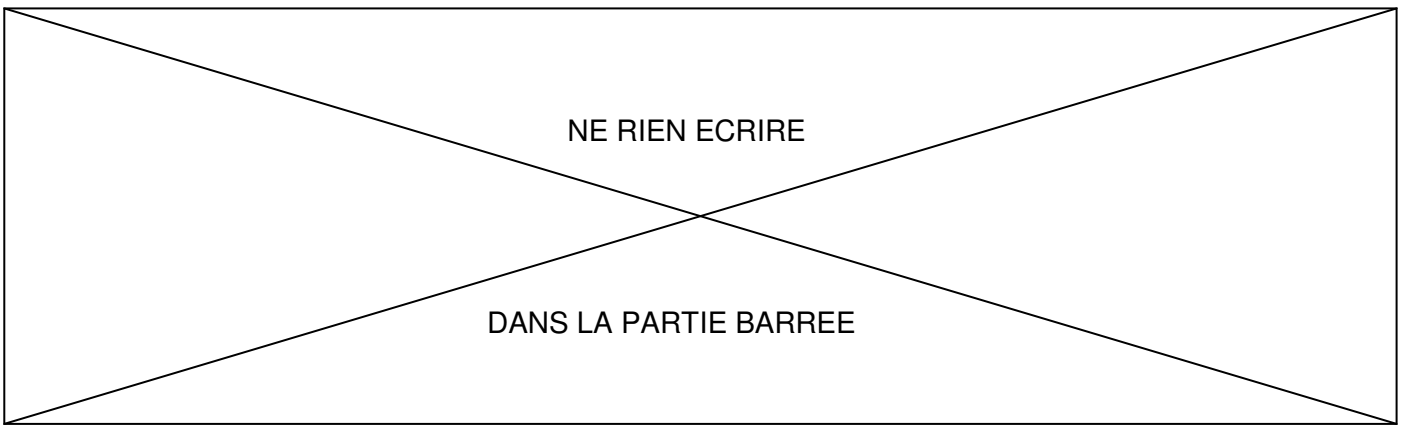


2b) En quoi le Western blot se distingue-t-il des Northern et Southern blot ?

2c) Expliquez le déroulement d'une expérience utilisant la technique du Western blot.

3 - A quoi sert un gène rapporteur ? Donnez deux exemples de gènes rapporteurs.

4 - Quelles sont les principales différences entre procaryotes et eucaryotes ? (5 lignes maximum)



5 - Définir les sigles suivants et préciser le rôle de ces molécules

-miRNA ;

-tRNA ;

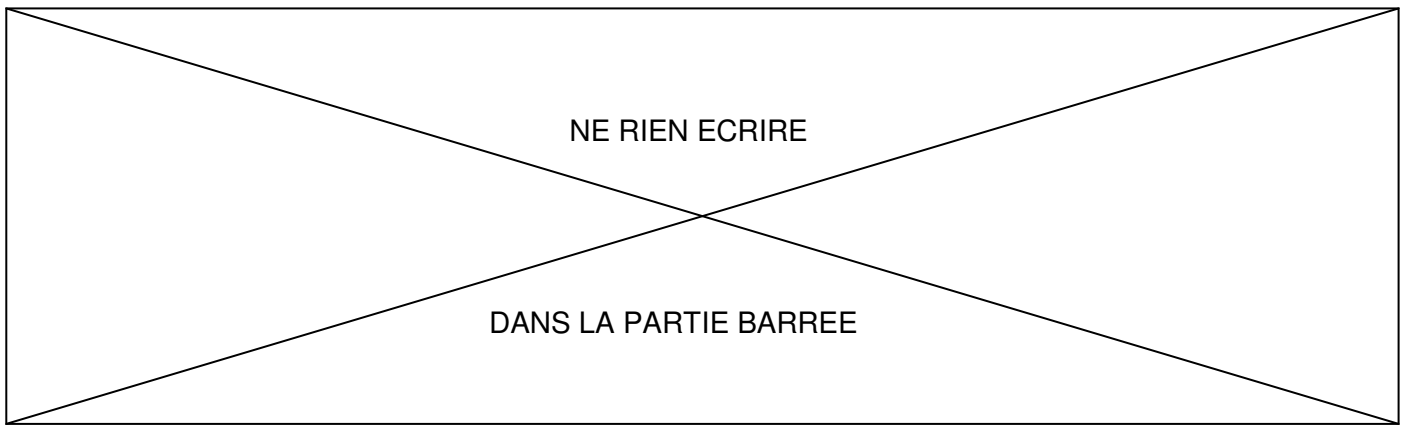
-mRNA

6 - Qu'appelle-t-on une mutation silencieuse ? (2 lignes maximum)

7 – Chromatographie d'exclusion

7a) Rappelez le principe de la chromatographie d'exclusion

7b) Quelle caractéristique d'un soluté peut-elle donner ?



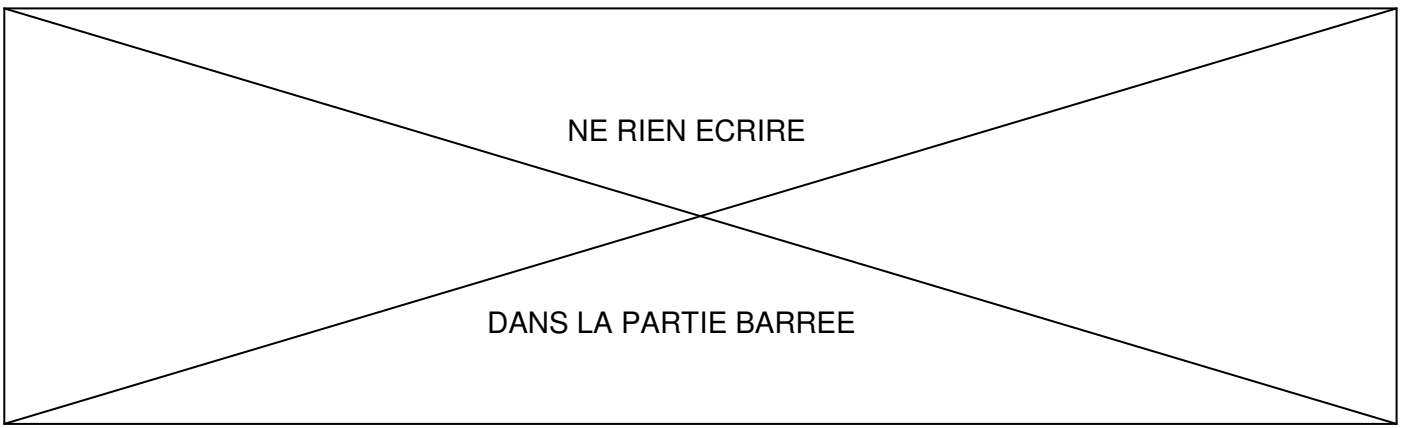
8 – Chromatographie liquide

8a) Représentez par un schéma un système de chromatographie liquide. Pour chaque composant de ce système, indiquez la fonction.

8b) Quels sont les différents modes d'élution des solutés en chromatographie liquide ? Définir chacun d'eux.

8c) Citez deux paramètres qui ne varient jamais en chromatographie liquide au cours d'une même série d'expérimentation. En conséquence, quel type de matériel doit être utilisé ?

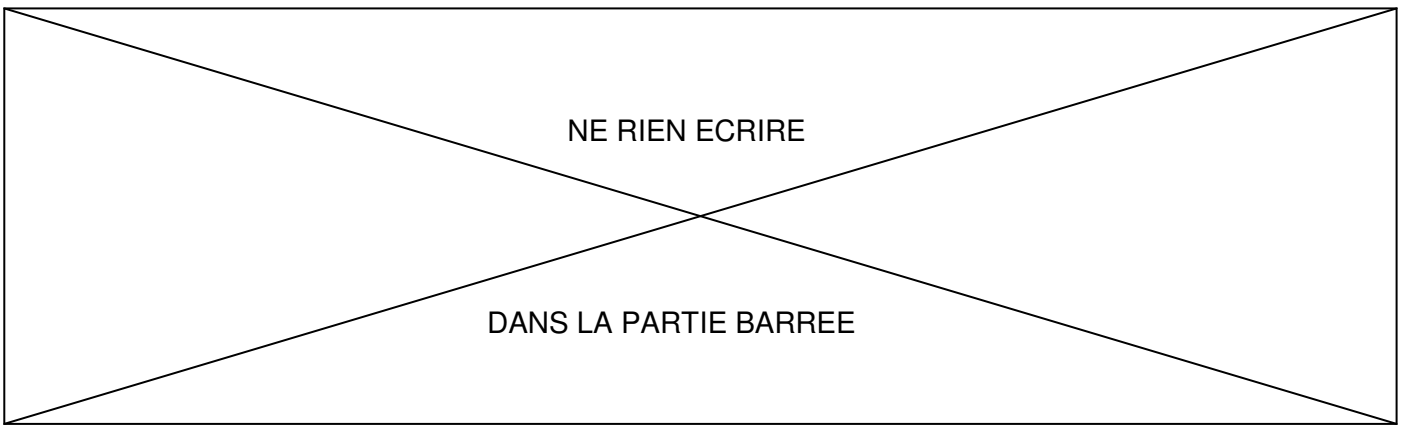
8d) Quelle technique de chromatographie liquide peut-on utiliser pour séparer les molécules chargées ? Quel type de support a-t-on à sa disposition ? Quel est le principe de la séparation



9 - Décrire le principe de la cytométrie de flux et faire un schéma simple de l'appareillage.

10 - Lors de l'électrophorèse des protéines en gel d'acrylamide, définissez le rôle du :

- Persulfate d'ammonium,



- **Bêta-mercaptoéthanol**

- **SDS.**

11 – Le tampon

11a) Qu'est-ce qu'un tampon ?

11b) Donner un exemple.

11c) Quelle est la caractéristique principale d'un tampon ?

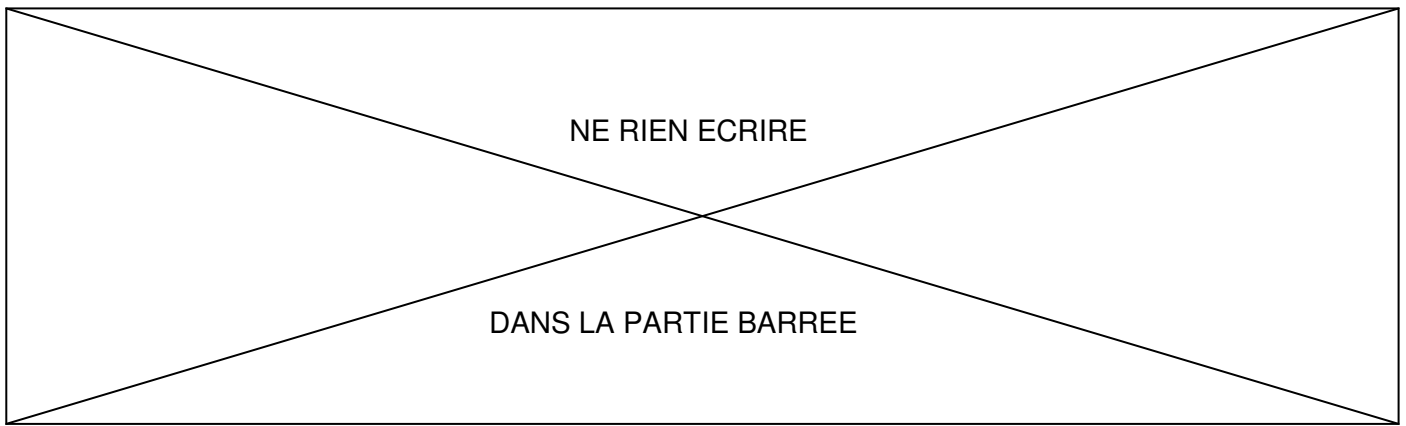
11d) Comment stériliser un tampon ?

12 - Qu'appelle-t-on un animal sentinelle ? Quelle est sa fonction ? (3 lignes maximum)

Protocoles techniques

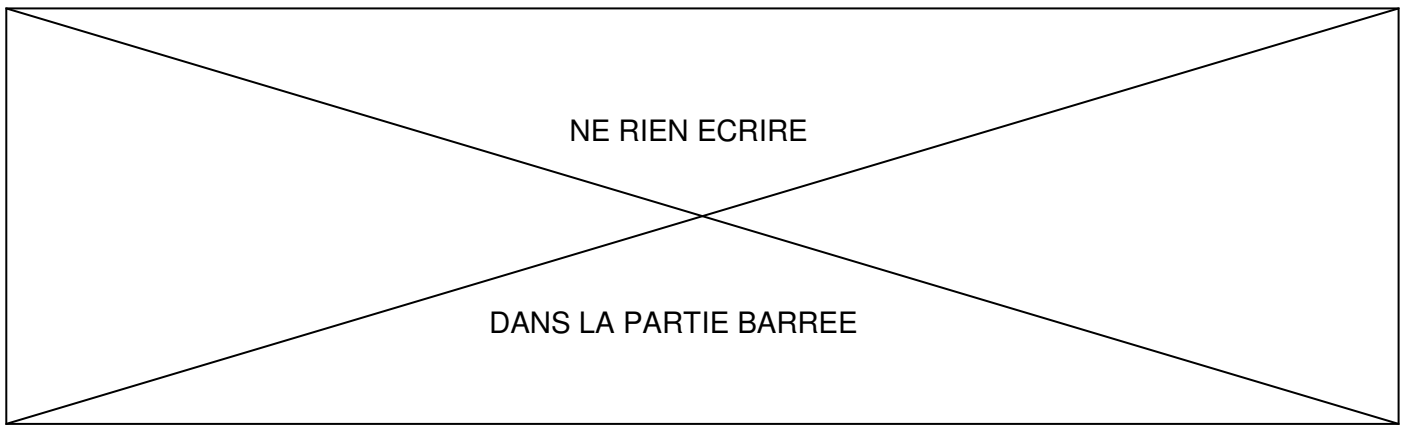
Protocole I

Kidneys were quickly removed from freshly killed Wistar rats and incubated for 30 min in PBS (Phosphate buffer saline) containing 4% sucrose and then incubated overnight at 4°C in PBS



containing 25% sucrose. Tissues were then embedded in Tissue-TEK OCT compound (Miles Inc., Elkhart, IN) and frozen in -60°C dry-ice cooled isopentane. $14\mu\text{m}$ thick serial sections were performed with a HM500M Microm cryostat and set down on Superfrost Plus slides. Tissues sections were post-fixed in 2% paraformaldehyde for 1 hr at room temperature and then incubated using 0.1% Triton X-100, 4% bovine serum albumin for 1 hr at room temperature. The tissues were then incubated overnight at 4°C in the same buffer with rabbit polyclonal antibodies raised against Parvalbumin (1:2000) combined with mouse monoclonal antibodies raised against Calretinin (1:1000). After several washes in PBS, sections were incubated for 1 hr at room temperature with secondary antibodies : FITC-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:2000) and Texas red conjugated goat anti-mouse IgG (1:500). After several washes in PBS sections were mounted in Mowiol. Confocal images were obtained on a Leica microscope (Nussloch, Germany).

Ia) - Rédigez en français un protocole de laboratoire permettant de mettre en œuvre cette méthode de marquage.



Ib) - D'après ce protocole de quelle couleur sera le marquage de la Calrétinine ?

Ic) - Pourquoi utilise-t-on du "bovine serum albumin" et par quoi pourrait-on le remplacer ?

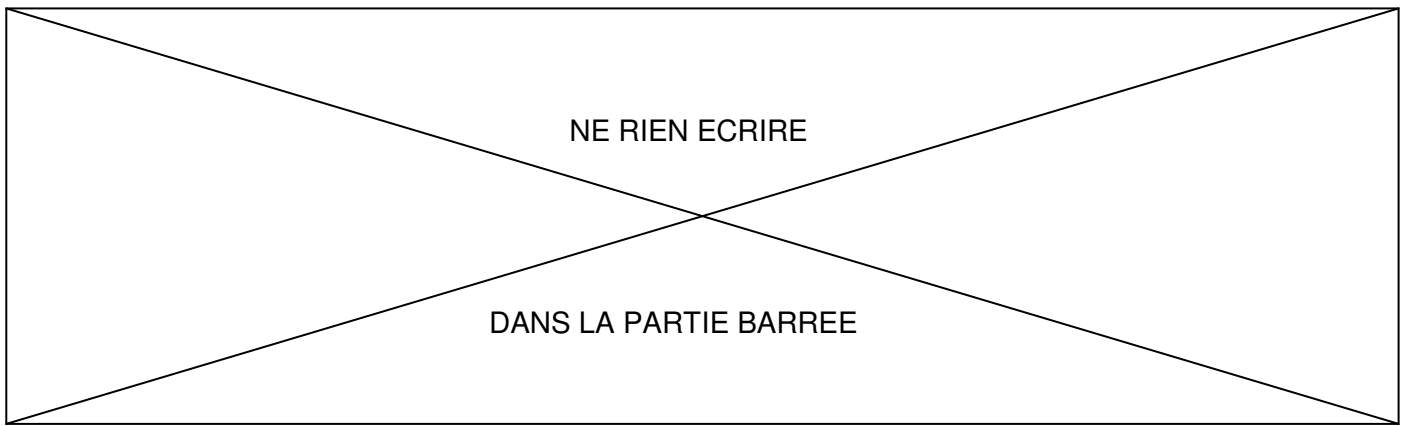
Id) - A quoi sert le sucrose ?

Ie) - A quoi sert le triton ?

If) - Citez un autre protocole de fixation.

Ig) - Que serait le résultat si l'anticorps anti-Parvalbumine était synthétisé chez l'âne ?

Protocole II



Voici la composition d'un tampon utilisé en hybridation *in situ* :

- 50% (v/v) formamide
- 1,3X SSC
- 5 mM EDTA
- 50 µg/mL yeast tRNA
- 2% (v/v) tween 20
- 0.5% (w/v) CHAPS

Vous disposez de formamide liquide, d'une solution de SSC 20X, de l'EDTA en poudre (M=292.25), une solution de yeast tRNA à 10 mg/mL, du Tween 20 liquide et du CHAPS en poudre (M=614.88).

IIa) - Comment préparez-vous 10 mL de ce tampon ?

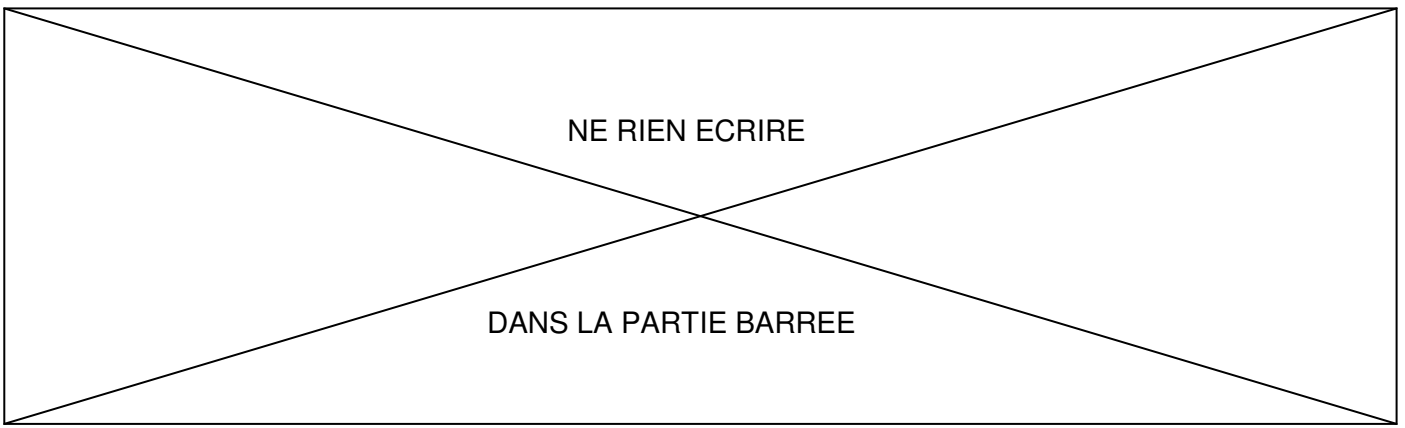
IIb) - A quoi sert la formamide en hybridation *in situ* ?

Protocole III

Dans le but d'amplifier un fragment d'ADN de 450pb (séquence ci-dessous), on vous demande de commander deux oligonucléotides de 20 bases.

Donnez les séquences de l'amorce directe et de l'amorce indirecte que vous choisiriez de commander.

```
5'-ATGTCCCGTG ACCTACAAAA CCATTTGTTA TTCGAGACTG CGACTGAGGT
TGCTAATAGG GTTGGTGGTA TTTACTCCGT GCTAAAATCG AAGGCTCCCA
TTACGGTTGC CCAGTATAAA GACCATTACC ACTTGATAGG GCCCTTAAAT
AAAGCCACTT ATCAAAATGA AGTTGATATA CTAGATTGGA AGAAGCCTGA
AGCCTTTTCC GATGAAATGA GGCCAGTGCA GCATGCCCTG CAAACAATGG
AATCTAGAGG AGTTCATTTT GTTTATGGGA GGTGGCTGAT TGAAGGTGCT
```



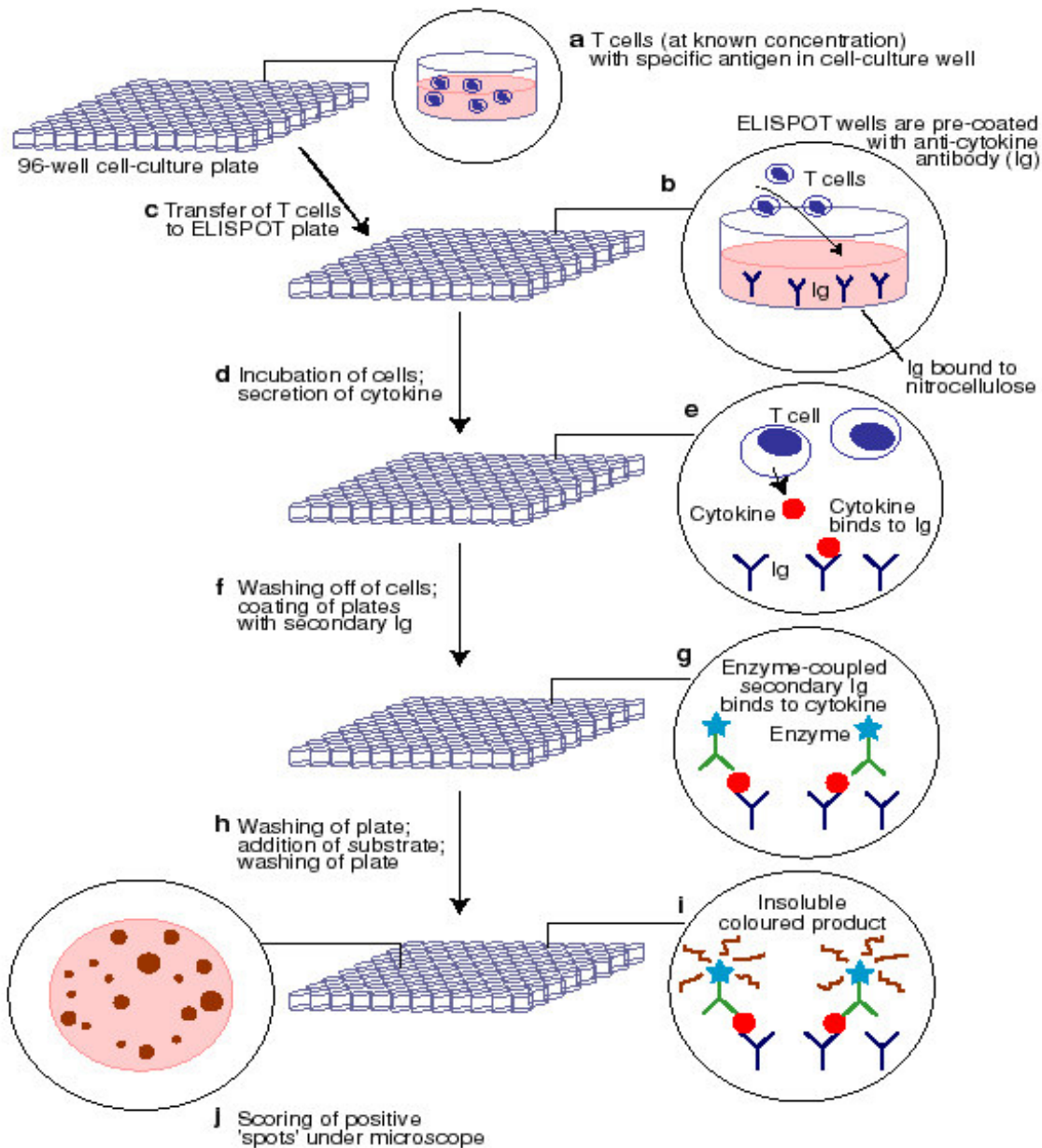
CCAAAAGTAA TACTTTTTGA CTTGGATTCT GTGAGAGGTT ATTCGAATGA
TACCTTCCCA CTAAATACCA GTAATCATCC TTAAGGGAGA GGACTCTTAC
ATTCGAGAC GAATGATGCT ATCCTATTGG GGTATACAGT CGCTTGGTTT-3'

Protocole IV

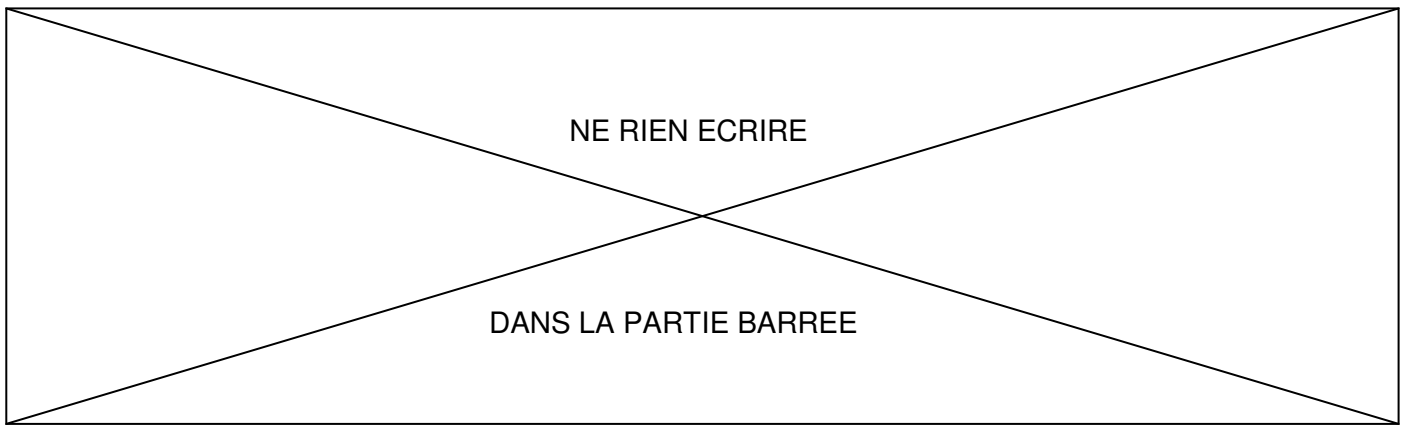
La figure ci-dessous illustre une application de la technique ELISPOT

NE RIEN ECRIRE

DANS LA PARTIE BARREE



IV-a) Légendez cette figure, en français, en lui donnant un titre et en indiquant la signification de chacune des étapes de a à j



IV-b) Par quelle(s) opération(s) technique(s) peut être réalisée l'étape b ? (2 lignes maximum)

IV-c) De quelle manière peut-être synthétisé le matériel rajouté à l'étape g ? (2 lignes maximum)

IV-d) Indiquez 3 couples enzymes-substrats pouvant être utilisés et la couleur obtenue dans chaque cas

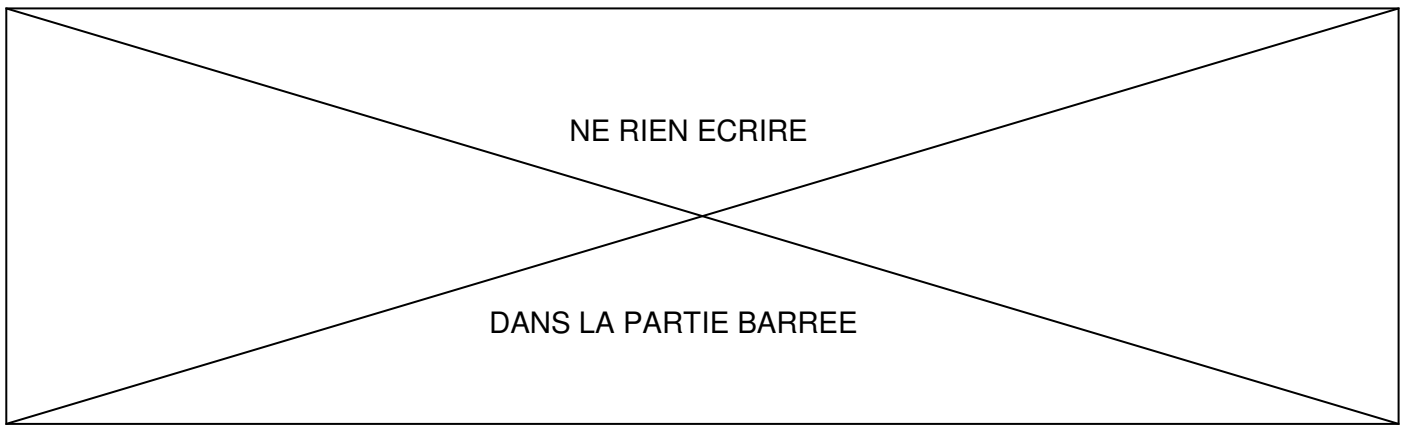
IV-e) Quel intérêt voyez-vous à l'utilisation de cette technique spécifique ? (2 lignes maximum)

Protocole V

Vous disposez de 9 échantillons et vous devez effectuer la même PCR sur chacun d'eux. Vous disposez des constituants suivants :

Amorce directe 100 μ M
Amorce indirecte 100 μ M
dATP 100mM
dCTP 100mM

Tampon Polymérase 10x
MgCl₂ 15mM
Polymérase 1U/ μ L
H₂O



dGTP 100mM
dTTP 100mM

Les concentrations finales voulues : amorces 200 nM, dNTP 250 μ M, MgCl₂ 1.5mM, polymérase 0.5U et 1 μ L de matrice pour 50 μ L au final.

Proposez un protocole (dilutions et mélanges judicieux) pour réaliser cette expérience.

Protocole VI

Vous devez préparer 250 mL d'acide chlorhydrique 100 mM. Les indications imprimées sur l'étiquette du flacon commercial sont les suivantes :

Acide chlorhydrique 37%

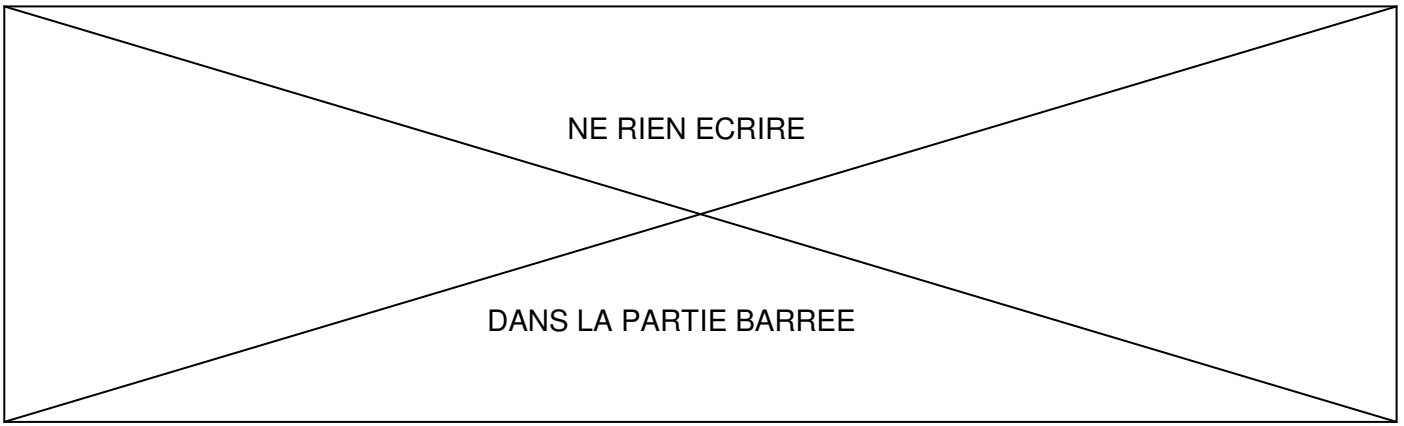
HCl : M= 36.49 g/mol

Densité 1,184

Corrosif

VI-a) Calculez la quantité d'acide à prélever. (Expliquez le résultat obtenu)

VI-b) Décrivez le mode opératoire et les précautions nécessaires.



Hygiène et sécurité

A. Citez deux protections individuelles et deux protections collectives utilisées en laboratoire pour la sécurité des personnes.

B. Donner une définition des termes suivants, et citer un exemple pour chacun :

- Asepsie

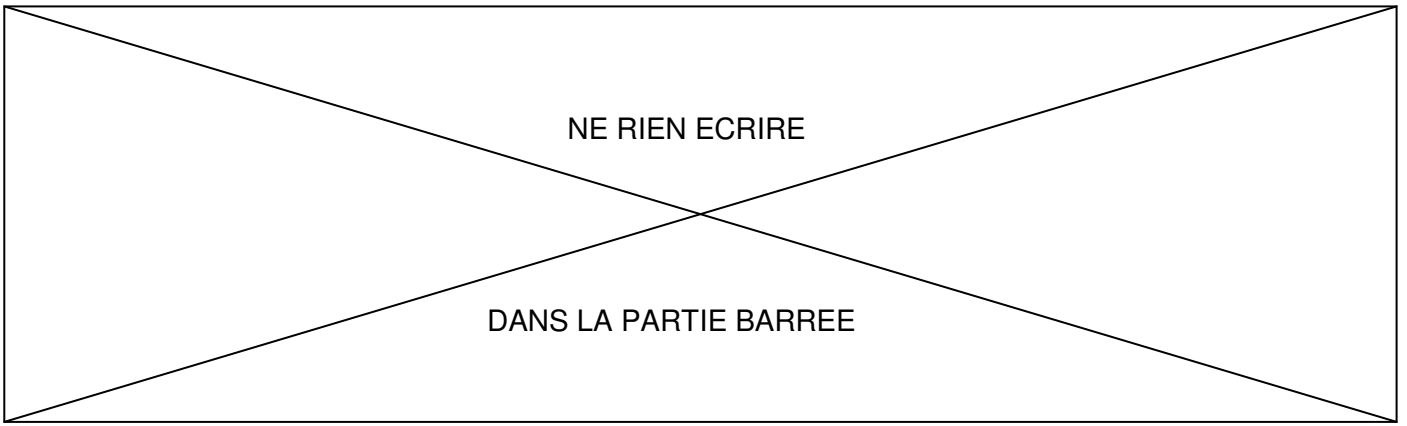
-Antisepsie

-Désinfection

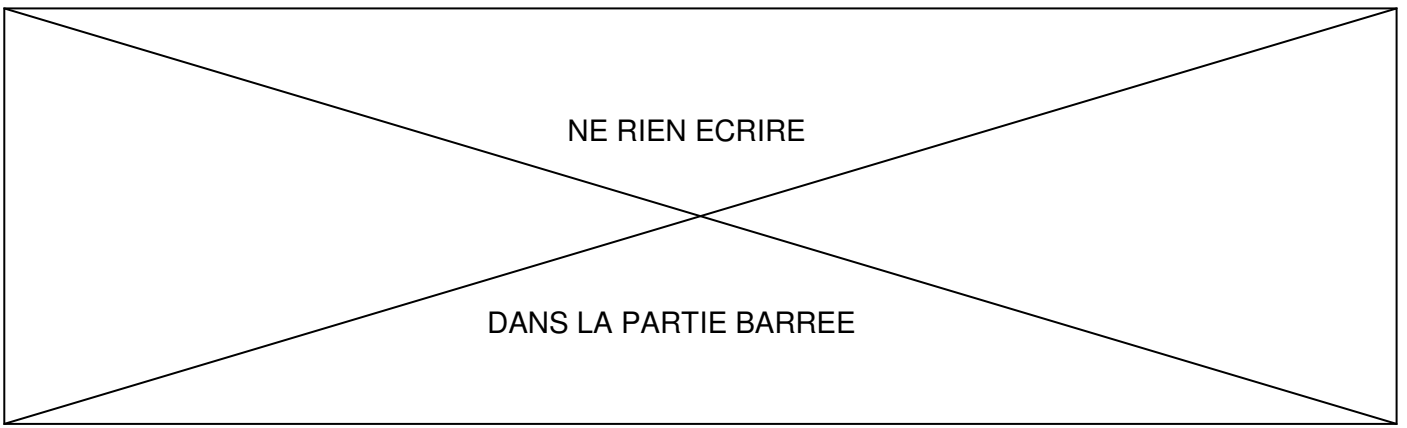
-Stérilisation

C. Vous allez être amené à travailler dans un laboratoire L2 ou L3.

A quoi correspond la dénomination L3 pour un laboratoire, et quelles en sont les installations requises ? (15 lignes au maximum)



D. Les agents infectieux pouvant être manipulés en laboratoire sont classés en groupes de risque.
Indiquez les critères de chaque groupe et donner un exemple d'agent infectieux pour chacun d'eux. (20 lignes au maximum)



E. Quels sont les facteurs à prendre en compte pour concevoir l'hébergement d'un animal ou d'un groupe d'animaux ? Vous prendrez l'espèce animale de votre choix pour illustrer vos propos.

F. Animalerie

F1) Quels sont les paramètres environnementaux à contrôler en animalerie ?

F2) Qui délivre les agréments d'une animalerie ?

F3) Citez un registre obligatoire en animalerie.

F4) Citez quatre mammifères utilisés en recherche.