

DANS CE CADRE	Académie : _____	Session : _____	Modèle : EN
	Examen ou Concours : _____	Série* : _____	
	Spécialité/option : _____	Repère de l'épreuve : _____	
	Épreuve/sous-épreuve : _____		
	NOM : _____ <small>(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)</small>		
Prénoms : _____	N° du candidat	<input type="text"/>	
Né(e) le : _____			<small>(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)</small>
NE RIEN ÉCRIRE	Examen ou concours : _____	Série* : _____	
	Spécialité/option : _____		
	Repère de l'épreuve : _____		
	Épreuve/sous-épreuve : _____ <small>(Précisez, s'il y a lieu, le sujet choisi)</small>		
	Appréciation du correcteur (uniquement s'il s'agit d'un examen) :		
Note : <input type="text"/>			
			20

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE, DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

Université Jean Monnet – Saint-Etienne
Session 2020

Concours externe Technicien de classe normale – BAP A

«Technicien-ne biologiste»

ÉPREUVE ÉCRITE D'ADMISSION
Jeudi 2 Juillet 2020

Durée : 3 heures – coefficient : 1

Important :

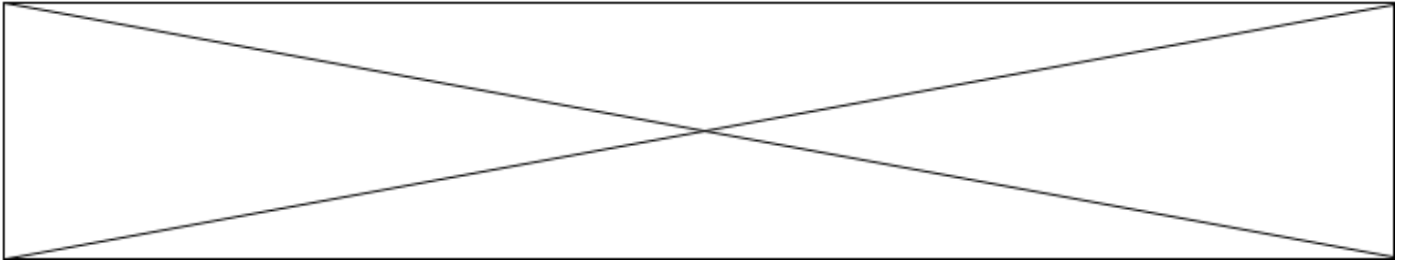
Assurez-vous que le sujet soit complet : pages numérotées de 1 à 42

Les réponses aux questions seront données directement sur le sujet.

L'usage de la calculatrice ou tout autre instrument n'est pas autorisé pendant l'épreuve

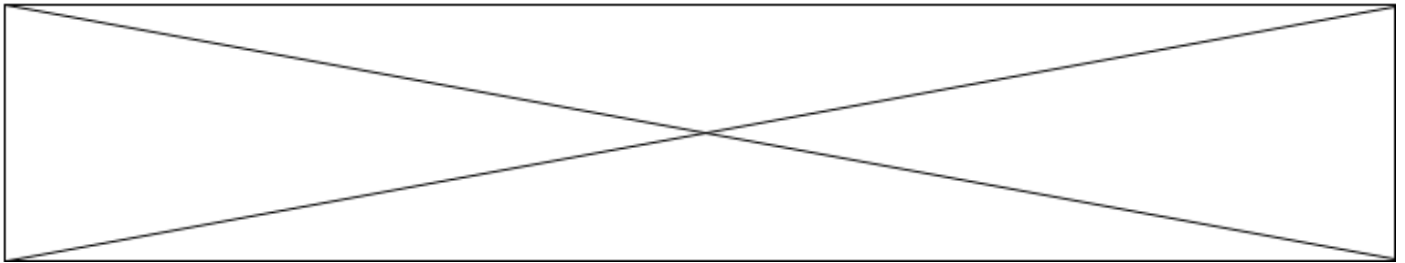
NOTE IMPORTANTE : les candidats seront tenus de répondre aux questions de façon concise, dans l'espace prévu, en utilisant les termes techniques appropriés.

Il est rappelé aux candidats que leur identité ne doit figurer que dans le cadre prévu à cet effet sur la copie et en aucun cas sur le sujet. **Toute mention d'identité portée en un autre endroit entraînera l'annulation de la copie.**



Le sujet ci-dessous est composé des parties suivantes :

- **Généralités**
- **Sécurité**
- **Biologie moléculaire**
- **Biologie cellulaire**
- **Biochimie-Immunologie**
- **Expérimentation animale**



Généralités : 95 points

1. Associez chaque personnage à son œuvre : (2 points)

Irène Joliot-Curie	Co-découvreur SARS-Cov
Francis Crick	Co-découvreur de la double hélice d'ADN
Christian Drosten	Classification périodique des éléments
Dimitri Mendeleïev	Découverte de la radioactivité artificielle

2. Abréviations : (2 points)

DASRI :

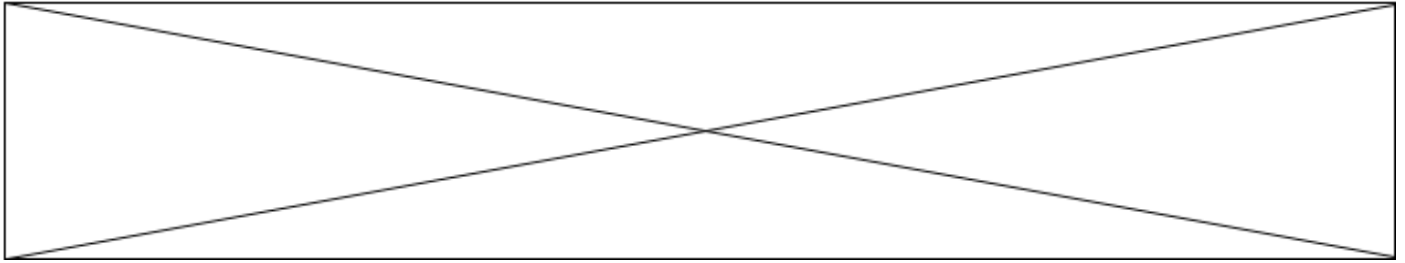
UMR :

HPLC :

EPI :

ITRF :

ARN :



QSP :

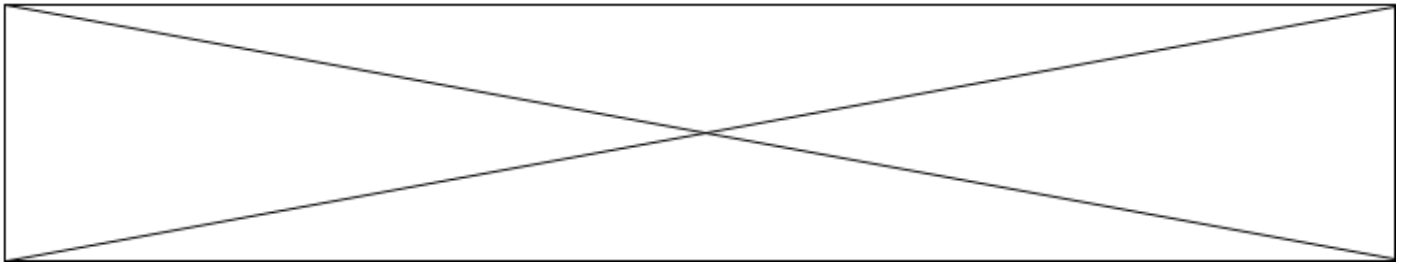
DUERP :

3. Conversions : effectuer les conversions suivantes (3 points)

- | | |
|--------------------|----------------------|
| 10 μg = | ng |
| 50 mL = | cm^3 |
| 45 % = | g.L^{-1} |
| 120 kDa = | g.mol^{-1} |
| 3 M = | mmol.L^{-1} |
| 10 ppm = | $\mu\text{g.L}^{-1}$ |

4. Classez dans l'ordre croissant : (3 points)

- $\frac{1}{2}$
- 5.10^{-2}
- $2.5.10^2$
- 0.02
- $\frac{3}{2}$
- 50.10^{-2}



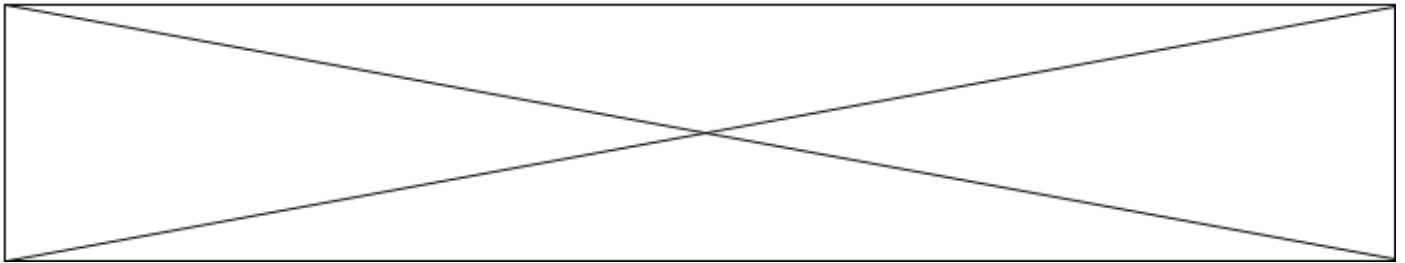
5. Formules chimiques : (2 points)

Nom du produit	Formule chimique
	$C_6H_{12}O_6$
Glycolle	
Formaldéhyde (formol)	
	CH_3OH

6. Pratique expérimentale : (26 points)

6.1 Comment procéderiez-vous pour vérifier la calibration d'une pipette à piston à volume variable p1000?

6.2 Quels sont les paramètres physiques importants à relever avant de réaliser cette vérification ?

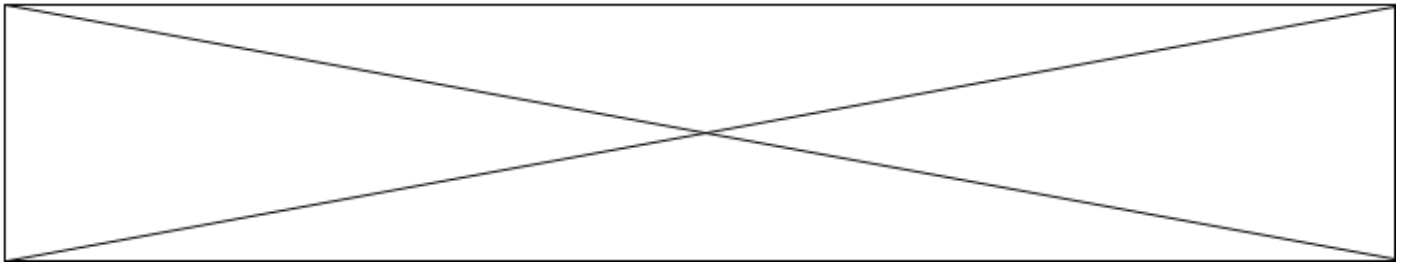


6.3 Test ELISA :

a. Que signifie cet acronyme ?

b. Citez 2 étapes techniques primordiales pour réaliser correctement ce test ?

c. Présenter sous forme d'un schéma annoté un test ELISA sandwich.

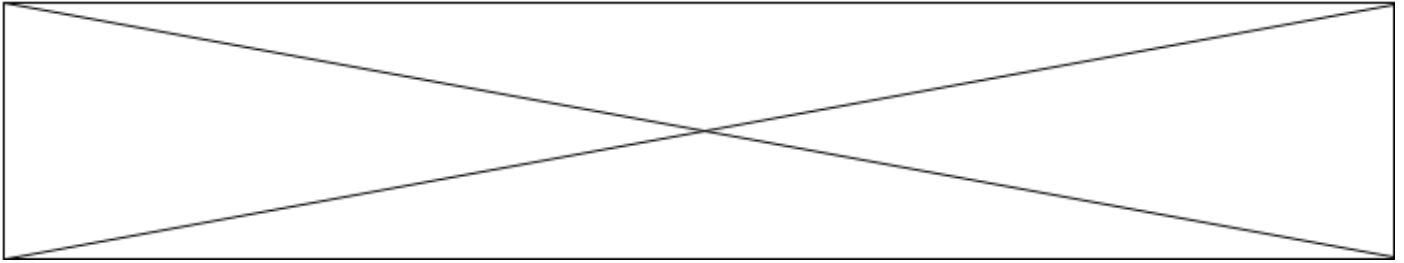


6.4 Spectrophotométrie :

a. Décrire le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre à l'aide d'un schéma.

b. A quoi sert un spectrophotomètre ? Donner la loi de Beer-Lambert.

c. Quels types d'ampoules peut-on trouver sur un spectrophotomètre ?



d. Quels domaines de la lumière couvrent-elles ?

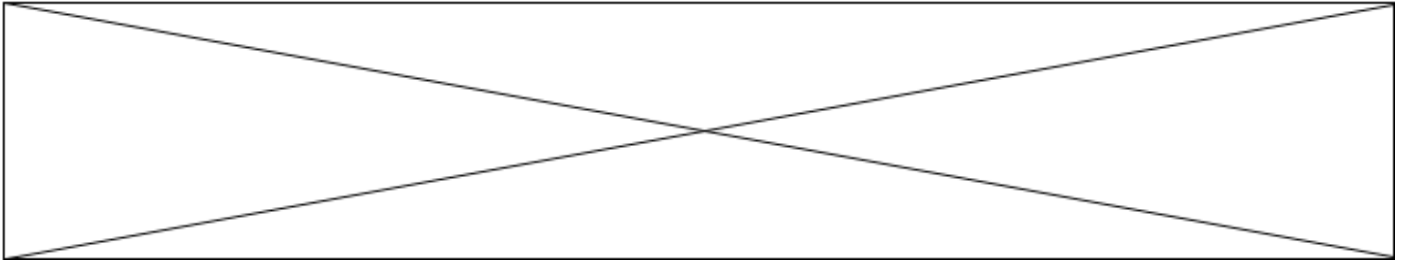
e. Quelle plage de longueurs d'onde couvrent ces ampoules ?

f. Quelle(s) précaution(s) prendrez-vous pour analyser un échantillon d'ADN en spectrophotométrie ?

g. Vous faites des extractions d'ADN sur 3 échantillons :

- 2 échantillons ont un rapport 260/280 de 2,1
- 1 échantillon a un rapport 260/280 de 1,7.

Que pouvez-vous conclure ? Pourquoi ?



7. Le cahier de laboratoire : définissez ce terme, son utilisation et son utilité. (6 points)

8. Organisation du laboratoire : (15 points)

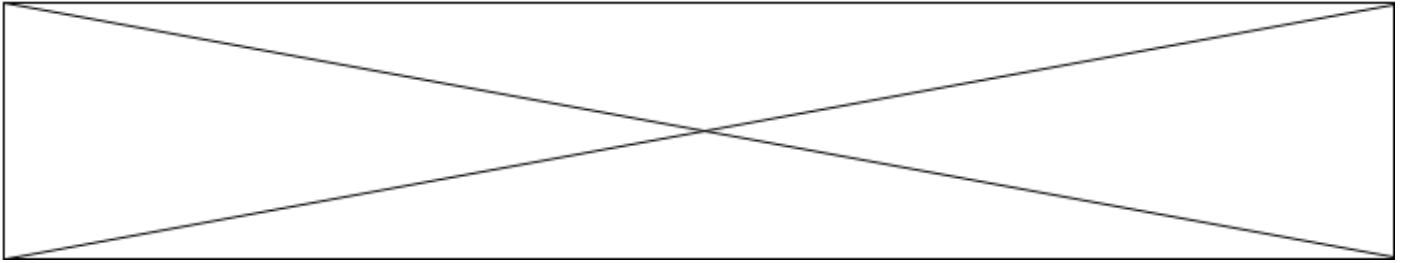
Une nouvelle plateforme d'analyse dédiée à la recherche et à la pédagogie vient d'être installée dans votre laboratoire.

L'utilisation des appareillages de la plateforme peut être facturée pour les personnels universitaires ne faisant pas partie de votre équipe de recherche.

Cette plateforme est rapidement sollicitée par les membres de votre équipe pour les enseignements et la recherche ainsi que par des chercheurs issus d'autres équipes et des extérieurs (non universitaires).

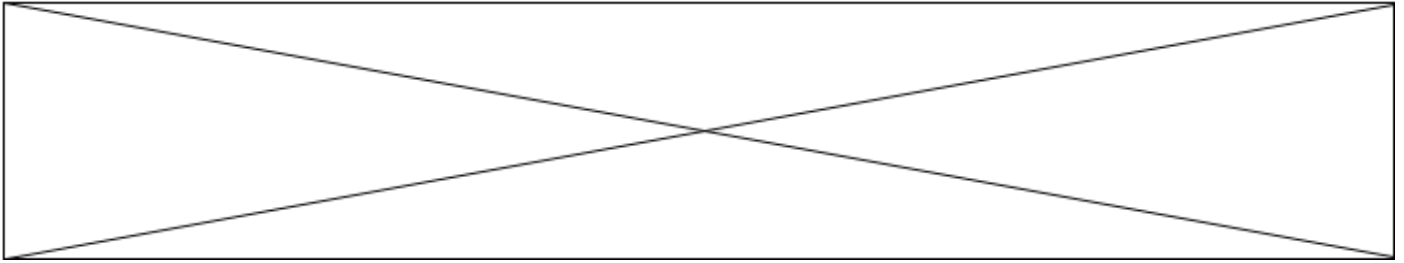
Vous êtes en charge de cette nouvelle plateforme.

- Comment organisez-vous son fonctionnement ?
- Développez les différents points.



9. Concernant votre futur poste : (36 points)

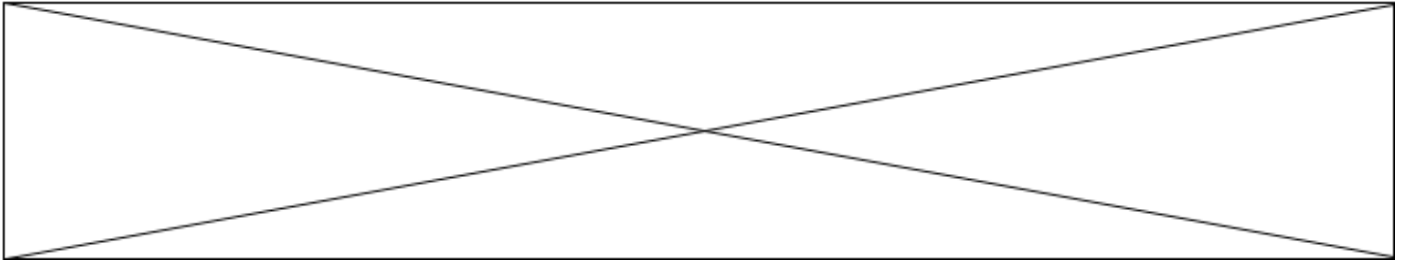
a. Quelles sont selon vous les qualités d'un bon technicien biologiste ?



b. Quel(s) enseignement(s) avez-vous tiré d'une difficulté professionnelle?

c. Quel(s) enseignement(s) avez-vous tiré d'une réussite professionnelle?

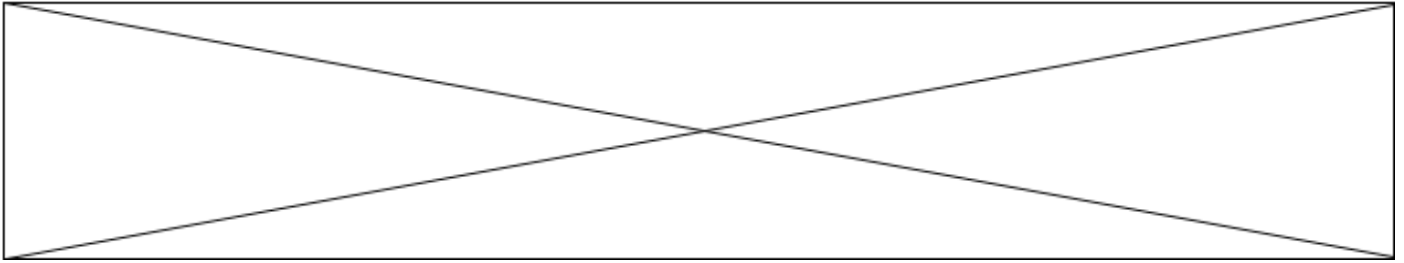
d. Que savez-vous de l'université-cible ?



e. Comment imaginez-vous vos 3 à 5 prochaines années ?

f. Quelle(s) responsabilité(s) aimeriez-vous prendre dans le futur ?

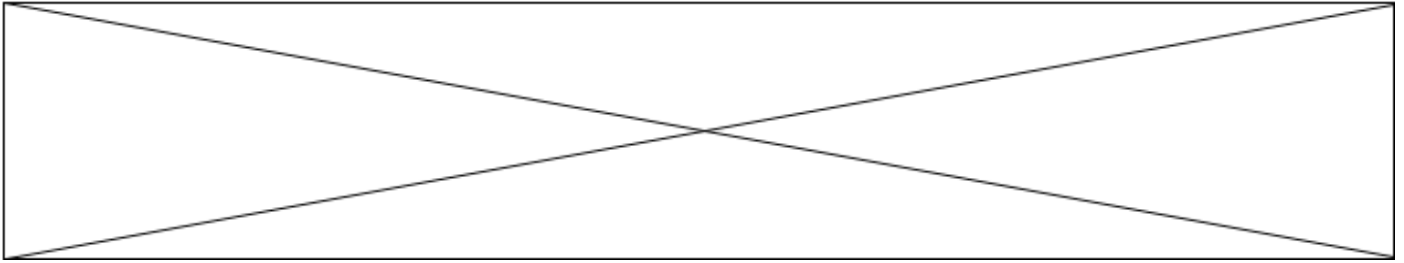
g. Quels sont les comportements qui vous irritent le plus au travail ?



h. En quoi vos compétences sont en adéquation avec le poste cible ?

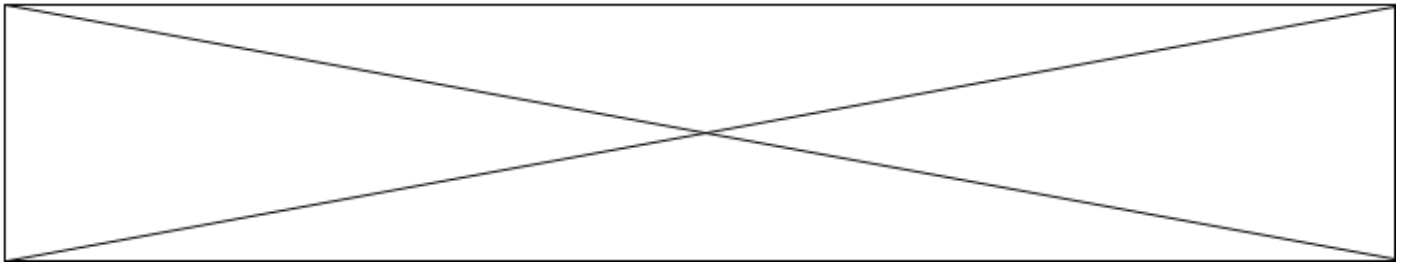
i. Qu'est-ce que l'esprit d'équipe selon vous ?

j. Comment définissez-vous la qualité de vie au travail ?



k. Pour vous, qu'est-ce que l'intégrité scientifique ?

l. Comment réagissez-vous au stress ou à la pression ?



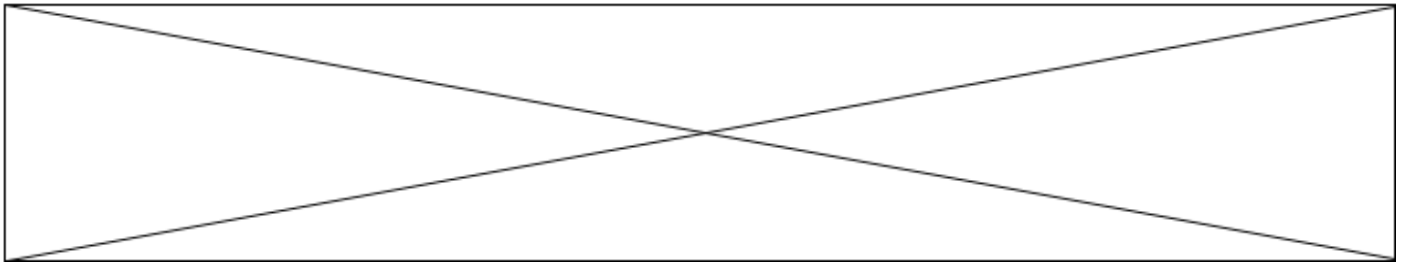
Sécurité (35 points)

1. Annotez les pictogrammes suivants : (5 points)



2. Qu'est-ce qu'un produit CMR ? (3 points)

3. Qu'est-ce qu'une fiche individuelle d'exposition?
Que devez-vous y renseigner? (2 points)

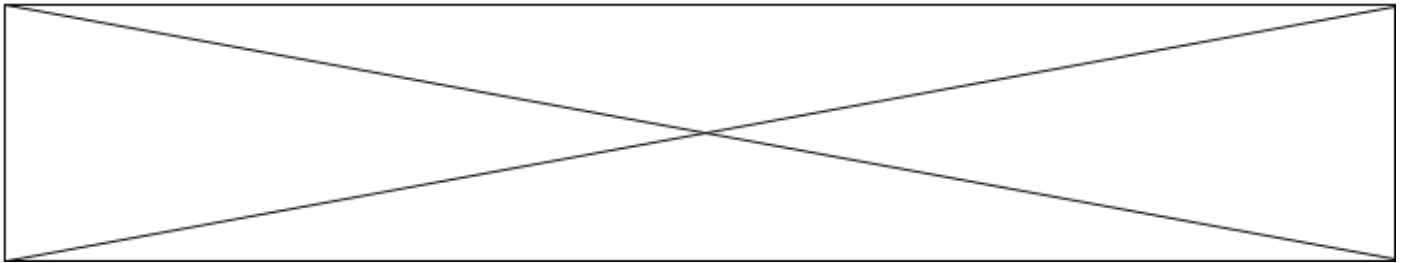


4. Associez le produit et ses conditions de manipulation : (4 points)

	Paillasse	Sorbonne	PSM
Culture primaire de fibroblastes			
Bis-acrylamide			
Suspension bactérienne			
Méthanol			
Prélèvement de tissu animal			
Tampon MOPS			
Acide chlorhydrique 1M			
Salive artificielle (amylase)			

5. Associez le produit et ses conditions d'élimination : (4 points)

	Poubelle ménagère	Evier	Bidon déchets chimiques liquides	DASRI
Isolement bactérien				
Chloroforme				
Culot cellulaire				
Lame de scalpel				
Solution de chlorure de sodium				
Surnageant de culture cellulaire javellisé				
Seringue				
Essuie-mains				

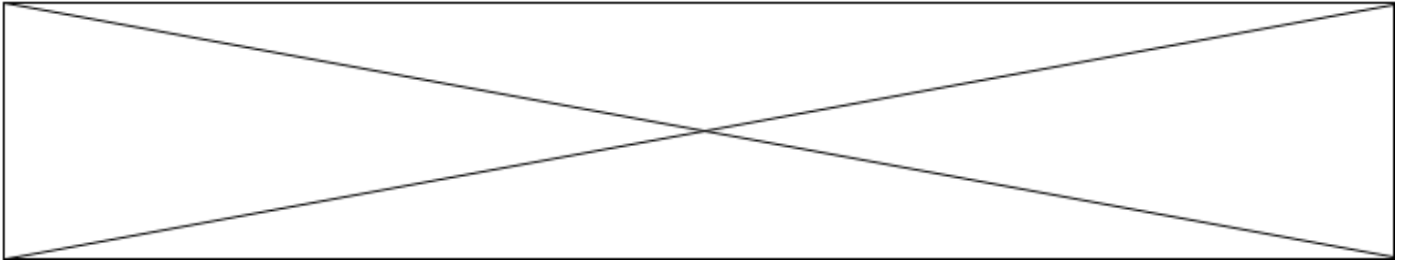


6. Associez le produit et son lieu de stockage : (4 points)

	Armoire ventilée	Placard du laboratoire	Réfrigérateur	Congélateur
Potassium hydrogénophosphate				
Milieu de culture déshydraté				
Ammoniaque				
Méthanol				
DMEM				
BET				
Taq polymérase				
Enzymes de restriction				

7. Associez l'équipement au type de maintenance : (4 points)

	Maintenance réglementaire (société habilitée)	Maintenance recommandée (en interne)	Pas de maintenance nécessaire
Autoclave			
Pipette à piston			
Centrifugeur			
Sorbonne			
PSM			
pHmètre			
Loupe binoculaire			
Incubateur CO ₂			



8. Stérilisation : (9 points)

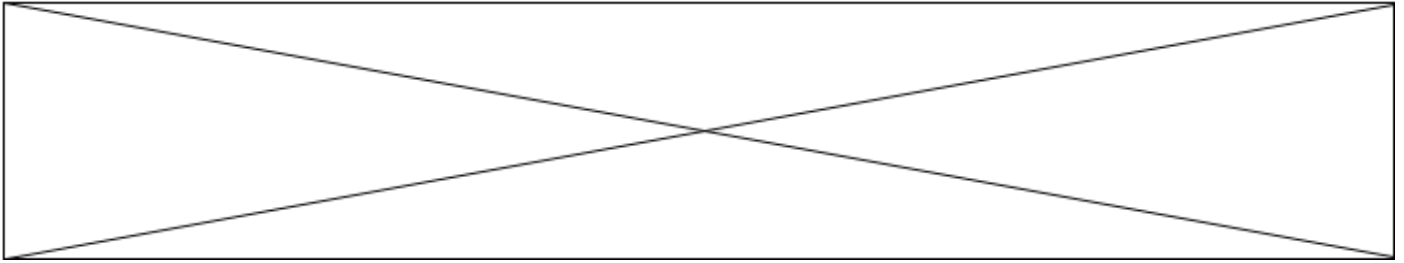
8.1 Quel est le principe de fonctionnement de l'autoclave ?

8.2 Quel est le prérequis nécessaire à la manipulation de cet appareillage ?

8.3 Comment vérifier l'efficacité de votre stérilisation par autoclavage ?

8.4 Citez 2 autres moyens de stérilisation.

8.5 Comment stériliseriez-vous un milieu destiné à la culture de cellules animales, pourquoi ?



Biologie Moléculaire (40 points)

Un laboratoire souhaite produire une protéine d'intérêt de 1000 acides aminés. La première phase est la préparation de l'insert d'intérêt à cloner dans un plasmide d'expression. L'insert est obtenu par PCR.

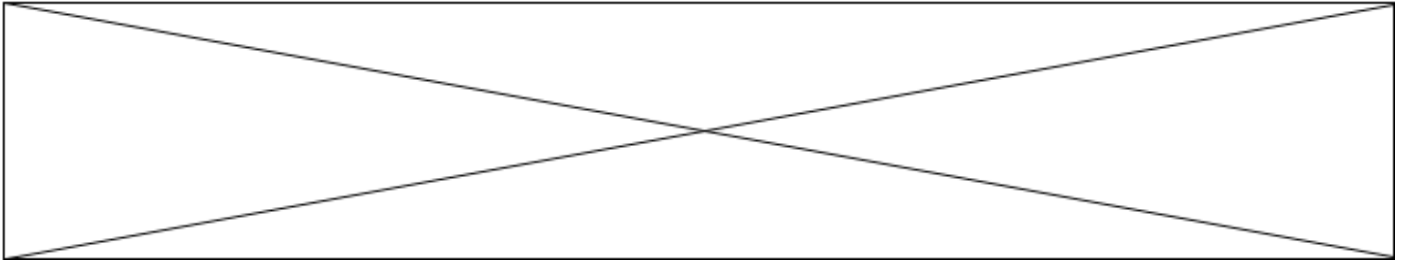
1. **Définir l'acronyme PCR.** (3 points)

2. **Donner la liste de tous les constituants du mélange réactionnel.** (3 points)

3. **Dans la liste des constituants de cette technique, on trouve la Taq polymérase.** (3 points)

Donner la nature, la caractéristique principale et le rôle de ce constituant.

4. **Quelle machine utilise-t-on pour réaliser une PCR ?** (1 point)



5. **Le laboratoire a fait synthétiser deux amorces pour réaliser la PCR de l'insert.** (2 points)

- Les amorces sont conditionnées sous forme de culot lyophilisé pour l'expédition.
- Les données du fournisseur sont :

Amorce P1 : 5'- GATTGCACCAGATGAGATGATTG -3'

Longueur = 23

T_m = 58,9°C

GC % = 43.5%

Masse molaire : 7127 g/mol

Quantité : 476 µg = 66.8 nmol

Amorce P2 : 5'- CATATCAATTAAGATATCCACGACACG-3'

Longueur = 27

T_m = 60.4°C

GC % = 37%

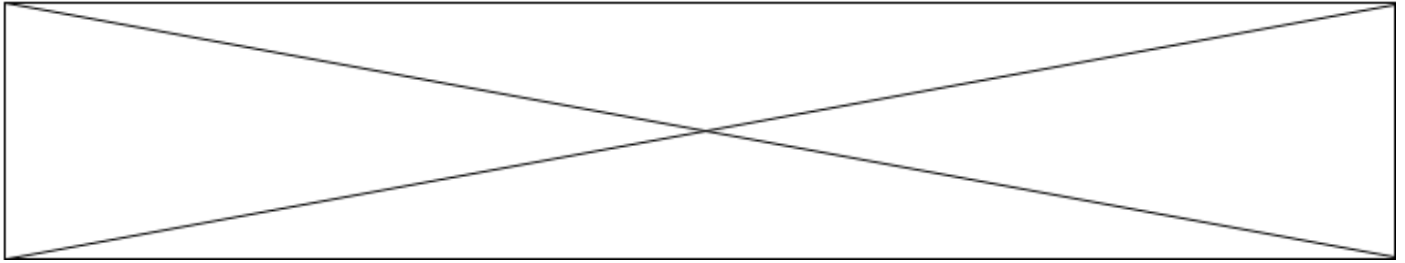
Masse molaire : 8220g/mol

Quantité : 467 µg = 56.8 nmol

- Que signifie T_m et quel facteur influence la valeur du T_m ?

6. **Vous désirez faire une solution stock dans de l'eau à une concentration de 100 µM.** (2 points)

Quel volume d'eau ajoutez-vous pour les amorces P1 et P2 ?



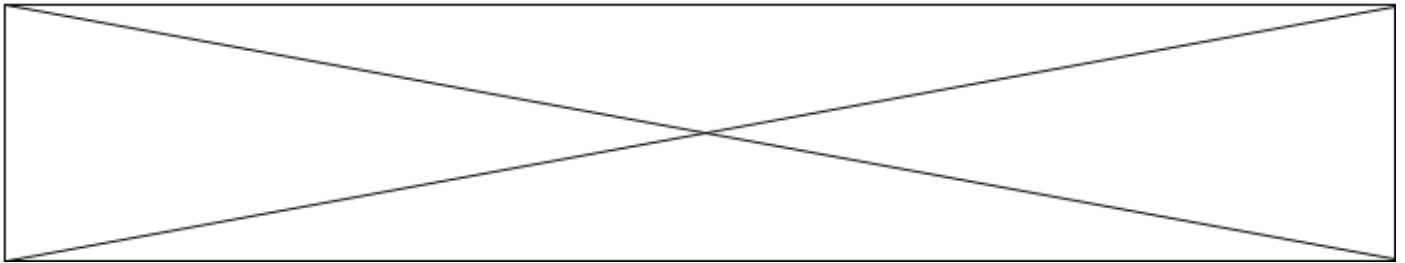
7. Donner un exemple de programme de PCR pour amplifier cet insert et nommer chacune des étapes.
(5 points)

Dans cet exemple les oligonucléotides ont un $T_m = 60^{\circ}\text{C}$, la processivité de l'enzyme est de 15 sec/kb et l'expérimentateur ajoute 15 sec sur le cycle d'élongation par rapport au temps donné par le fabricant .

8. Citez une technique permettant ensuite d'analyser la réaction de PCR? (1 point)

9. Quel agent chimique permet de visualiser l'ADN à la question 8? (1 point)

10. Quelles informations nous apporte cette technique ? (2 points)



11. La séquence de l'insert obtenu présente à chacune de ses extrémités une séquence spécifique de l'enzyme de restriction EcoRI. (2 points)

Quelle est l'activité de ce type d'enzyme ?

12. Le plasmide d'expression dans lequel on insère le produit de PCR a été digéré par EcoRI. (1 point)

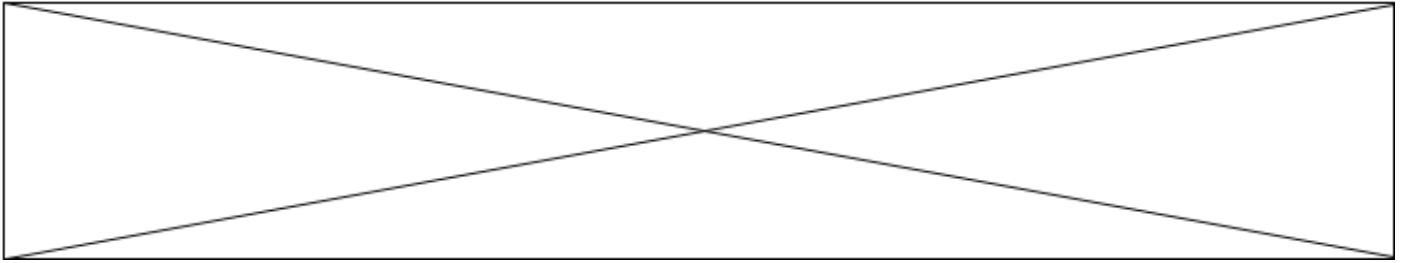
Quelle étape doit-on réaliser afin d'éviter que le plasmide ne se relige sur lui-même ?

13. Quelle enzyme utilise-t-on à la question précédente ? (1 point)

14. Quelle enzyme utilise-t-on pour réaliser la ligation du plasmide avec l'insert ? (1 point)

15. Le produit de ligation doit être amplifié et analysé. (12 points)

a. Citer deux méthodes de transformation dans des bactéries.



- b. Proposer et expliquer deux méthodes afin de déterminer quel clône va être envoyé en séquençage.

- c. Avant de vérifier la séquence de ce plasmide il faut d'abord l'amplifier.

Le protocole utilisé est le suivant : **Miniprep Kit Protocol**

The Spin Miniprep Kit can be stored at room temperature (15–25°C) for up to 12 months. For more information, please refer to the most recent version of the Miniprep Handbook.

Notes before starting

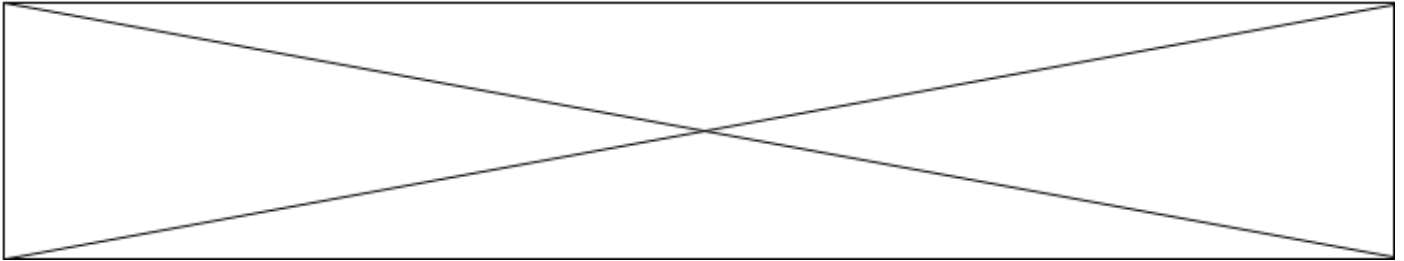
Optional: Add LyseBlue reagent to Buffer P1 at a ratio of 1 to 1000.

Add the provided RNase A solution to Buffer P1, mix and store at 2–8°C.

Add ethanol (96–100%) to Buffer PE before use (see bottle label for volume).

All centrifugation steps are carried out at 13,000 rpm (~17,900 x g) in a conventional table-top microcentrifuge.

- 1. Pellet 1–5 ml bacterial overnight culture by centrifugation at >8000 rpm (6800 x g) for 3 min at room temperature (15–25°C).*
- 2. Resuspend pelleted bacterial cells in 250 µl Buffer P1 and transfer to a microcentrifuge tube.*
- 3. Add 250 µl Buffer P2 and mix thoroughly by inverting the tube 4–6 times until the solution becomes clear. Do not allow the lysis reaction to proceed for more than 5 min. If using LyseBlue reagent, the solution will turn blue. Add 350 µl Buffer N3 and mix immediately and thoroughly by inverting the tube 4–6 times. If using LyseBlue reagent, the solution will turn colorless.*
- 5. Centrifuge for 10 min at 13,000 rpm (~17,900 x g) in a table-top microcentrifuge.*
- 6. Apply 800 µl supernatant from step 5 to the spin column by pipetting. For centrifuge processing, follow the instructions marked with a triangle. For vacuum manifold processing, follow the instructions marked with a circle. Centrifuge for 30–60 s and discard the flow-through, or apply vacuum to the manifold to draw the solution through the spin column and switch off the vacuum source.*



7. *Recommended: Wash the spin column by adding 0.5 ml Buffer PB. Centrifuge for 30–60 s and discard the flow-through, or apply vacuum to the manifold to draw the solution through the spin column and switch off the vacuum source.*

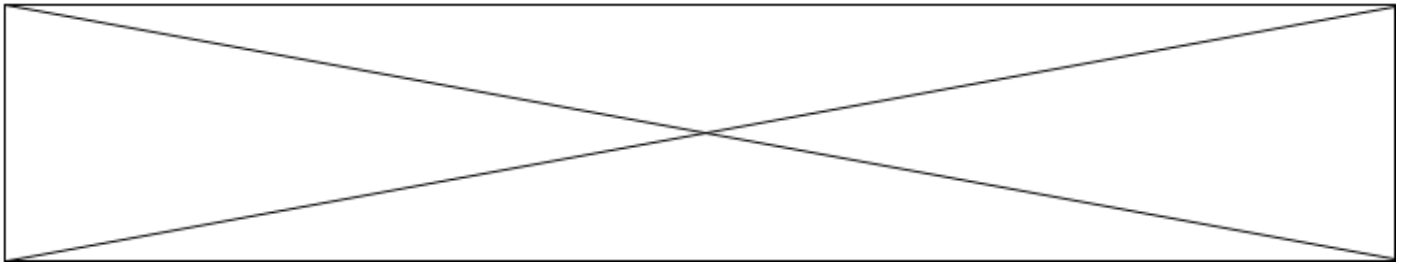
Note: This step is only required when using endA+ strains or other bacteria strains with high nuclease activity or carbohydrate content.

8. *Wash the spin column by adding 0.75 ml Buffer PE. Centrifuge for 30–60 s and discard the flow-through, or apply vacuum to the manifold to draw the solution through the spin column and switch off the vacuum source. Transfer the spin column to the collection tube.*

9. *Centrifuge for 1 min to remove residual wash buffer.*

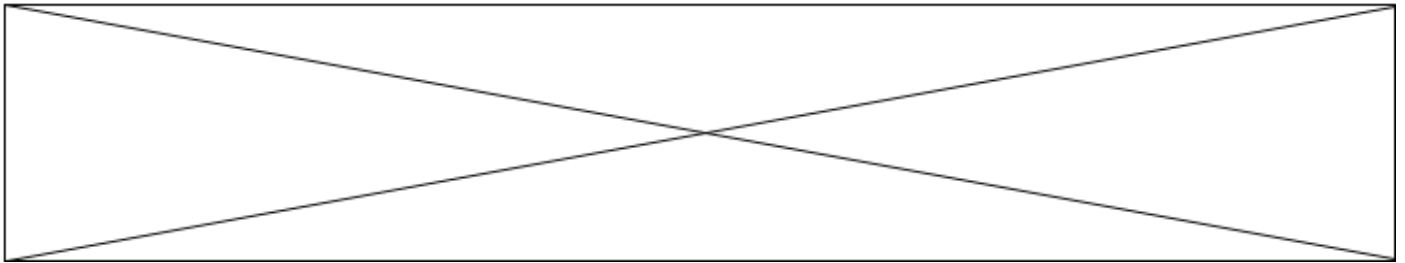
10. *Place the column in a clean 1.5 ml microcentrifuge tube. To elute DNA, add 50 μ l Buffer EB (10 mM TrisCl, pH 8.5) or water to the center of the spin column, let stand for 1 min, and centrifuge for 1 min.*

11. *If the extracted DNA is to be analyzed on a gel, add 1 volume of Loading Dye to 5 volumes of purified DNA. Mix the solution by pipetting up and down before loading the gel.*



- Traduire en français les termes suivants (vous les retrouverez soulignés dans le protocole) :

Buffer	
Pellet	
Thoroughly	
Proceed	
Supernatant	
Discard	
To flow-through	
Switch off	
Strains	
Vacuum	
Draw	
Wash buffer	
Loading Dye	
DNA	

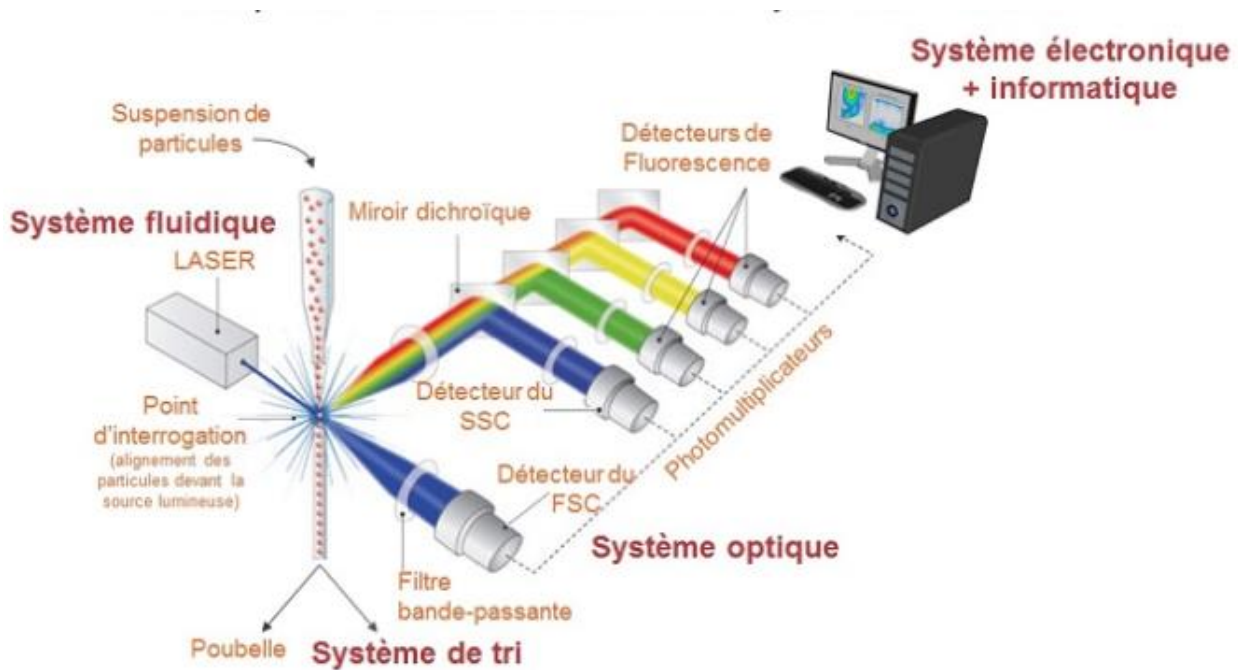


Biologie cellulaire (30 points)

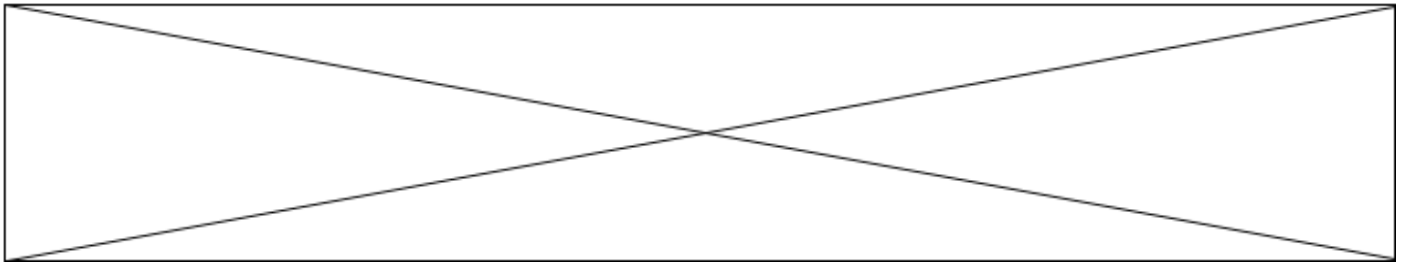
1. Le cytomètre en flux : (12 points)

Le cytomètre en flux est régulièrement retrouvé sur les plateformes technologiques. Les applications sont aujourd'hui très nombreuses aussi bien dans le domaine de la santé qu'en microbiologie classique.

Voici son schéma de principe :



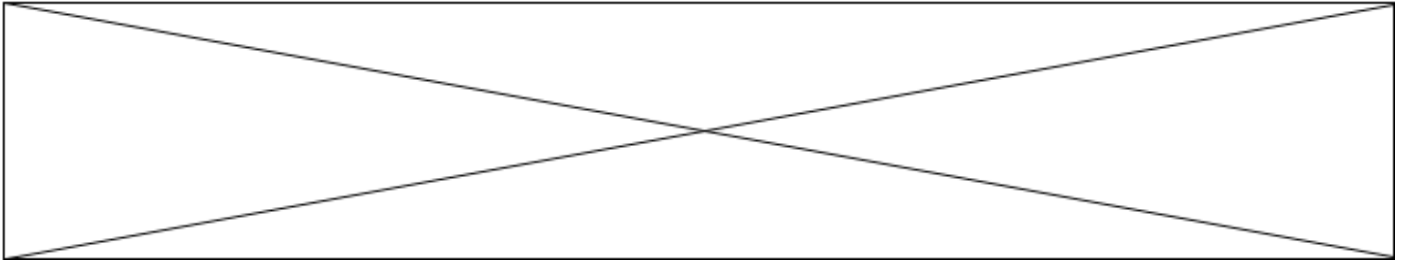
Sources : Plateau technique URCACYT de l'Université de Reims



1.1 Rappelez brièvement son principe et donner au moins une application en biologie cellulaire et une application en microbiologie classique.
Justifiez votre réponse à l'aide d'exemples.

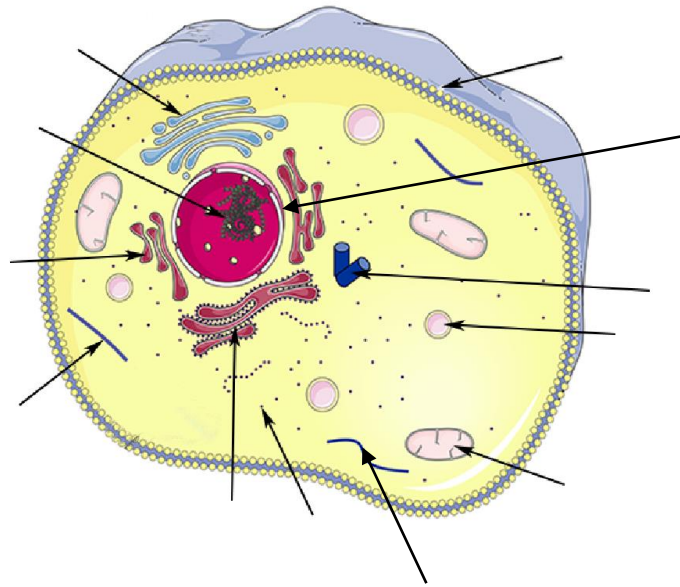
1.2 A quoi sert l'iodure de propidium ?
Quel est son mode d'action sur la cellule ?

1.3 Que signifie : microorganisme en état VNC ?



2. **La cellule :** (3 points)

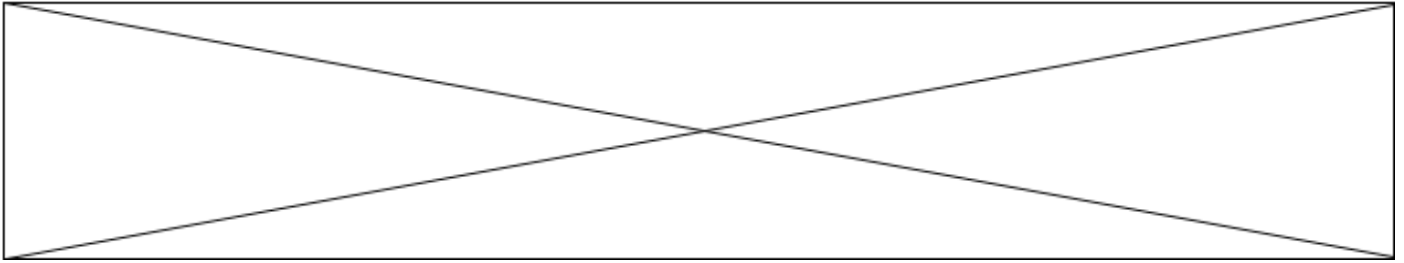
Donnez un titre et légendez le schéma suivant :



3. **Culture cellulaire :** (10 points)

3.1 Définissez ces différents types de lignées cellulaires :

- Lignée cellulaire primaire :



- Lignée cellulaire secondaire :

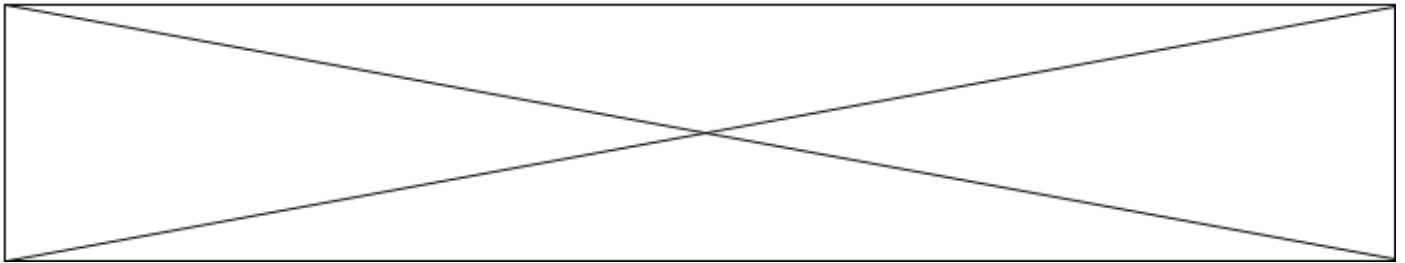
- Lignée continue :

3.2 Justifiez l'utilisation des produits suivants en culture cellulaire :

- Antibiotiques :

- Trypsine :

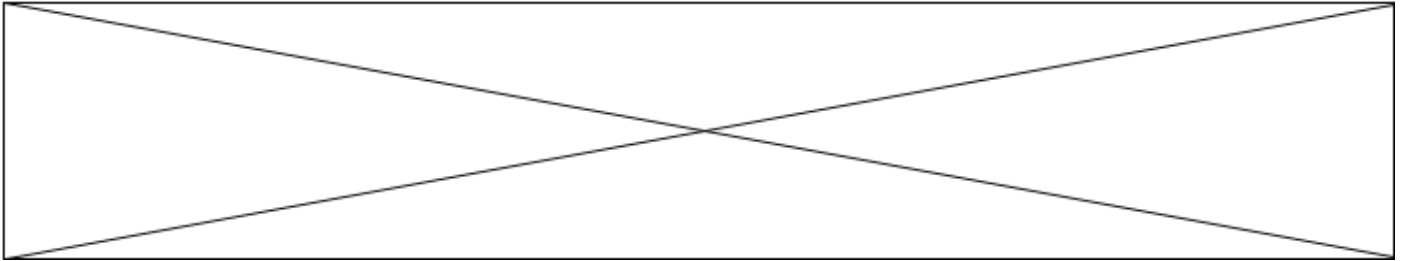
- Sérum de veau fœtal :



- Rouge de phénol :

3.3 Comment vérifiez-vous la viabilité de vos cellules en cours de culture ?

3.4 Comment conserveriez-vous des cellules sur une longue période ?

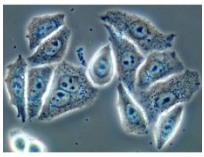


4. Reconnaissance microscopique : (5 points)

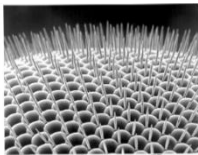
Identifiez les photos suivantes en les reliant à la bonne proposition



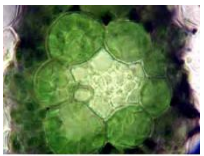
taille réelle ~150 μ



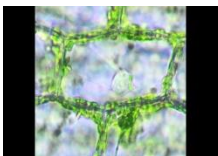
taille réelle ~10 μ



taille réelle ~ 200 μ

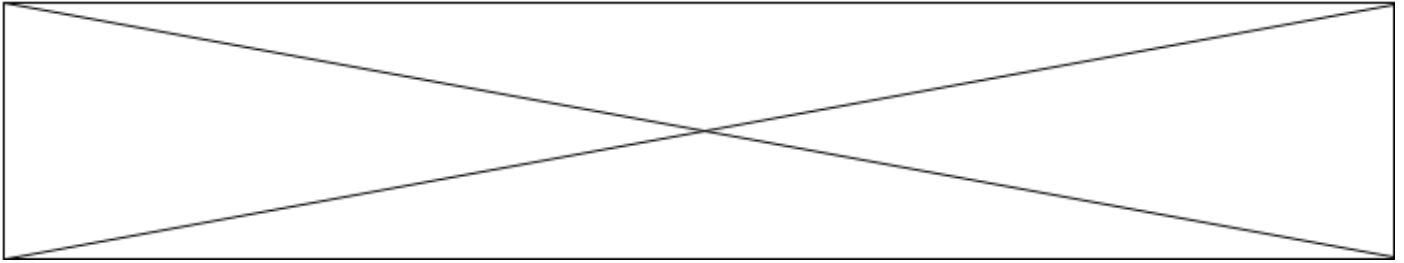


taille réelle ~ 3 μ



taille réelle ~ 50 μ

- Œil de drosophile
- Culture de cellules HeLa
- Cellule végétale
- Paramécie
- Chloroplaste



Biochimie-Immunologie : (50 points)

1. Préparation d'une solution tampon : (28 points)

Vous devez préparer **500 mL** de la solution suivante :

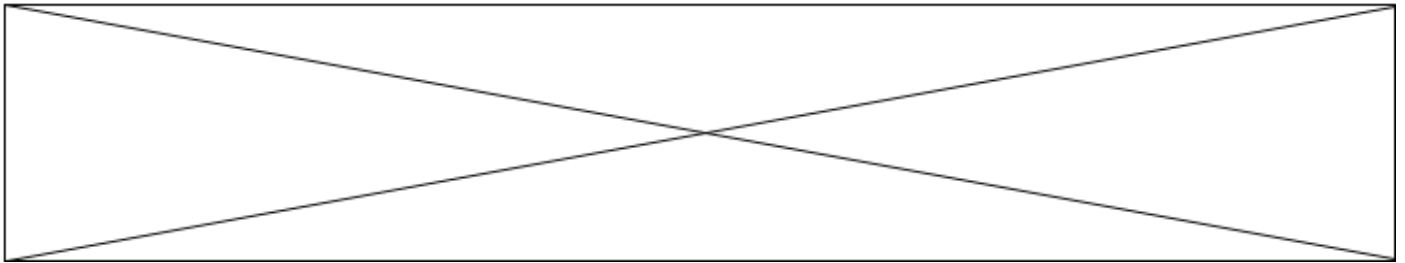
- 100 mM Na Cl
- 1% NP-40
- 20mM Tris
- Cocktail d'Inhibiteurs de protéases
- pH 7.4

1.1 Nommer, décrire et donnez le rôle de ces différents constituants dans le tableau suivant :

	Nom	Description	Rôle
NaCl			
NP-40			
Tris			
Inhibiteurs de protéases			

1.2 Expliquer de façon précise les différentes étapes (calculs, matériels utilisés, technique) permettant de préparer la solution demandée sachant que vous disposez de :

- Une solution de NaCl à 5M
- Une solution de NP-40 à 10%
- Tris en poudre (MW = 120g.mol⁻¹)
- HCl concentré 37%
- Une solution de cocktail d'inhibiteurs 100X

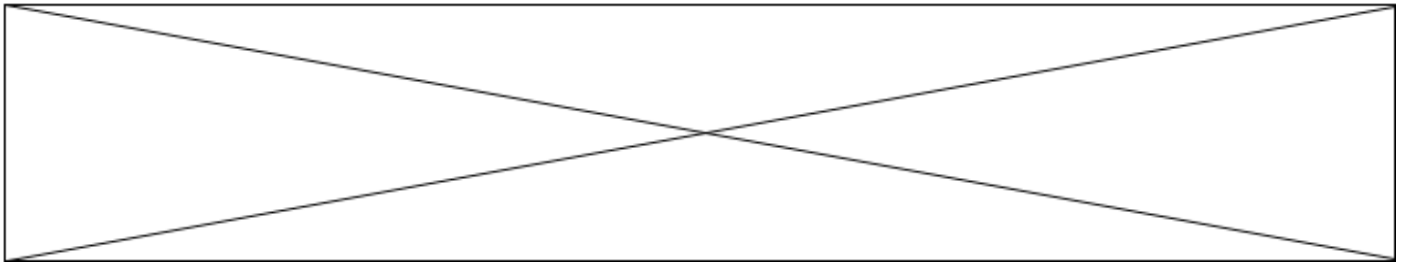


1.3 Selon votre expérience, dans quel but sera utilisée cette solution ?

2. Préparation d'une gamme d'étalonnage de BSA : (6 points)

Sachant que l'on dispose d'une solution stock de BSA à 1 mg.mL^{-1} , définissez de manière pertinente les volumes à prélever de la solution de BSA et de la solution tampon pour faire une gamme étalon avec 0, 2, 4, 6, 8 et 10 μg de BSA dans un volume final de 100 μl .

Présentez les résultats sous forme de tableau.



3. Étude d'une protéine par Western blot et Immunofluorescence : (16 points)

Vous devez débiter une étude sur une protéine P chez l'homme. Vous trouvez des anticorps commerciaux dirigés contre la protéine P humaine cependant personne n'a encore travaillé sur la protéine P dans le type cellulaire qui vous intéresse.

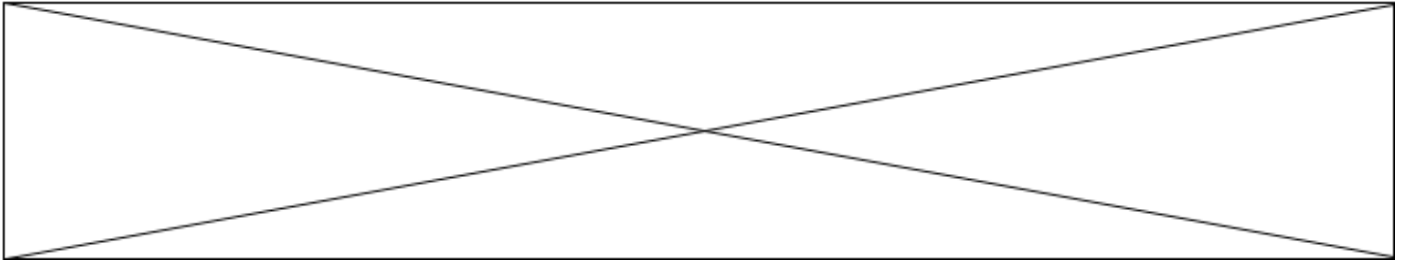
Vous trouvez des anticorps validés pour western blots et des marquages par immunofluorescence.

Votre responsable vous demande de réaliser un western blot et un marquage par immunofluorescence.

3.1 Quelle(s) information(s) vous donne(nt) chacune des deux techniques :

3.2 Le protocole d'immunofluorescence est le suivant :

1. Seed $1-1.5 \times 10^4$ cells per well of a 4-chamber slide in 500 μ L of culture medium. Incubate at 37°C at 5% CO_2 .
2. 32–36 hours post cell seeding, remove the cell culture medium and rinse the cells 3 times using 500 μ L of 1X PBS.
3. Add 400 μ L of 4% paraformaldehyde (pH 7.4) for 10 min at 37°C .
4. Remove paraformaldehyde solution and wash the cells 3 times with 500 μ L of 1X PBS.
5. Add 400 μ L of 0.1% Triton X-100 in 1X PBS and incubate the cells at room temperature for 15 min.
6. Remove Triton-X-100 and wash the cells three times with 500 μ L of 1X PBS.
7. Add 500 μ L of 2% BSA in 1X PBS and incubate the cells at room temperature for 60 min. (Alternately, the cells can be incubated overnight in 2% BSA or 1X PBS before proceeding to immunostaining.)
8. Add the desired concentration of primary antibody diluted in 500 μ L of 0.1% BSA to the cells and incubate for 3 hours at room temperature or overnight at 4°C .
9. Remove primary antibody solution and wash the cells three times with 500 μ L of 1X PBS.
10. Add the desired concentration of fluorescent dye-labeled secondary antibody along with a compatible counterstain for the nucleus (DAPI) diluted in 500 μ L of 0.1% BSA and incubate for 45 min at room temperature protected from light.
11. Wash the cells three times with 500 μ L of 1X PBS-T.



12. Air-dry the coverslip/chamber slide and add the mounting medium (containing antifade agent).
13. If desired, seal the coverslips and visualize the target antigen by fluorescence microscopy.

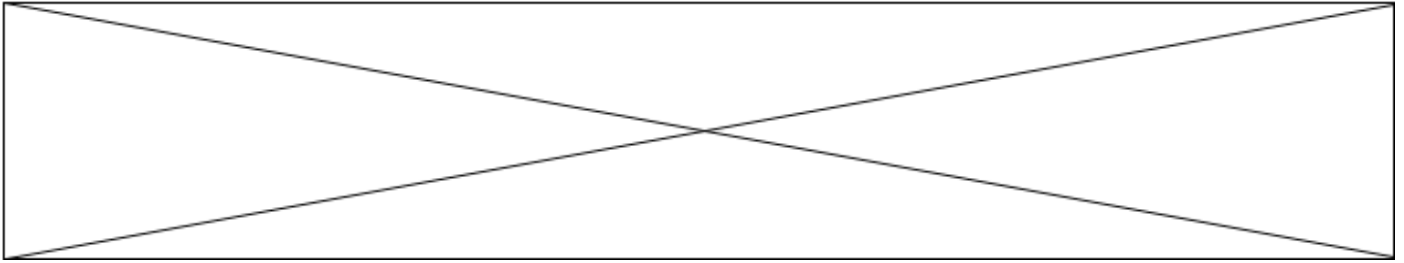
Note: Use extra wells for controls.

- Control #1—without antibodies, only include counterstains.
- Control #2—with fluorescent dye-labeled secondary antibody only, without including primary antibody to test for specificity of fluorescent staining.

a. Quel est le rôle du paraformaldéhyde ?

b. Quel est le rôle du triton X-100 ?

c. Vous désirez préparer 20 mL de 0,1% Triton X-100 dans 1X PBS, pour cela vous disposez d'une solution de Triton X-100 à 20% et d'une solution de PBS-10X. Comment procédez-vous ?



d. Que veut dire BSA ?

e. A quoi sert la BSA à l'étape numéro 7 ?

f. Vous disposez d'un anticorps dirigé contre la protéine A, la fiche du fournisseur est la suivante :

Prot P Antibody

Catalog Number: 27-426

Clonality: Polyclonal

Tested Applications: ELISA, IHC, WB, IF

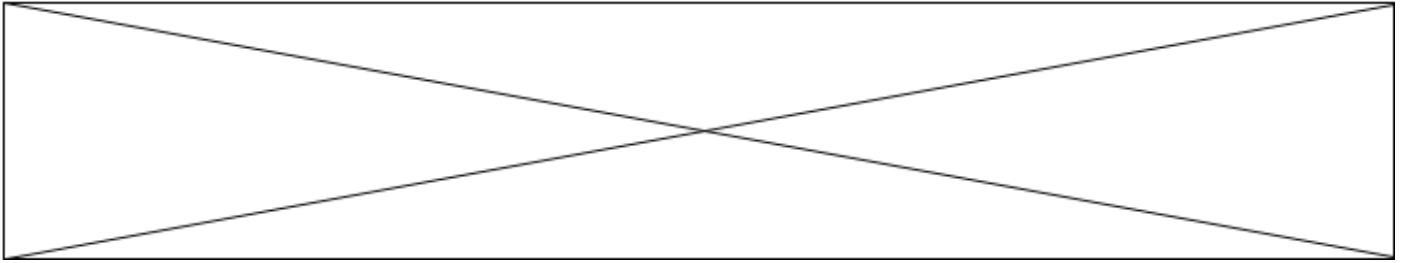
Dilutions: WB:1/5000 and IF: 1/1000

Species Reactivity: Human

Host Species: Rabbit

Conjugate: Unconjugated

Size: 100 μ L



h. Dans votre laboratoire vous disposez de deux anticorps secondaires suivants.

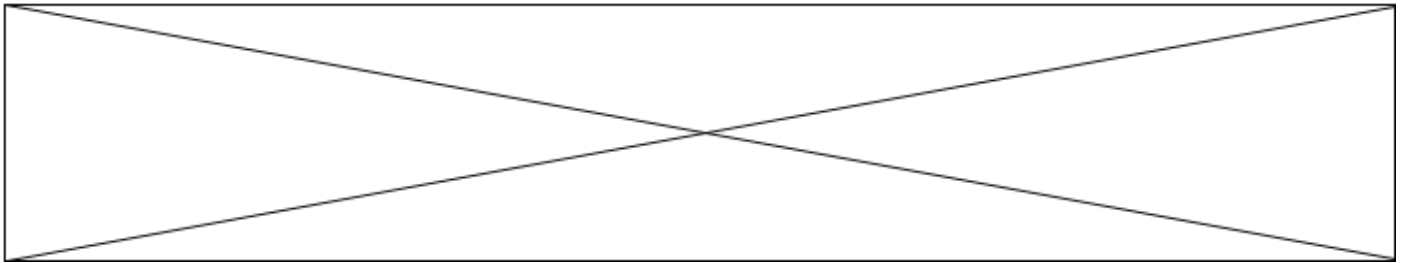
- Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor Plus 594
- Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor Plus 488

Expliquez brièvement lequel parmi ces deux anticorps secondaires allez-vous choisir ?

i. De quelle couleur avez-vous marqué la Protéine P ?

j. A quoi sert le contrôle numéro 1 ?

k. A quoi sert le contrôle numéro 2 ?



Expérimentation animale (10 points)

1. Définir les acronymes suivants : (4 points)

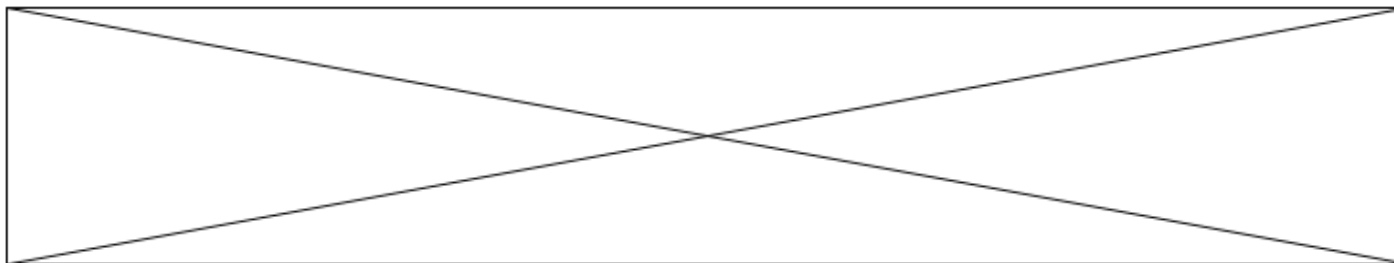
- D.D.P.P. :

- E.O.P.S. :

- S.B.E.A. :

- C.N.E.A. :

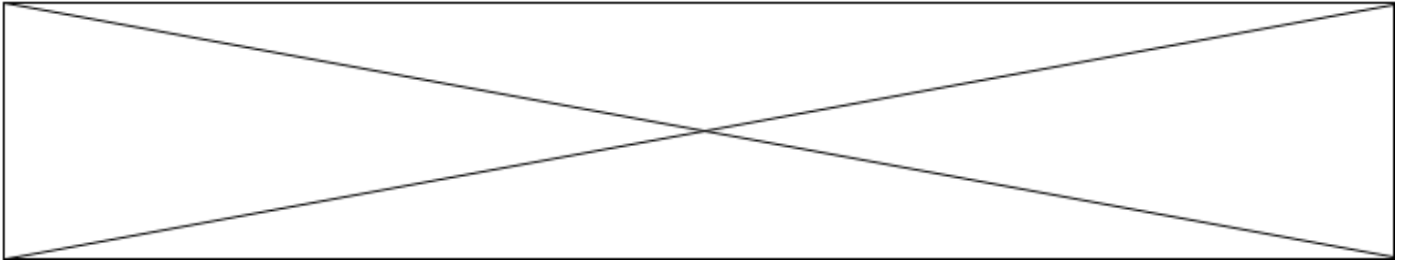
2. Citez et décrivez brièvement les différents niveaux d’habilitation à l’expérimentation animale ? (3 points)



3. La règle des 3R : (6 points)

3.1 Définissez cette règle en expliquant chaque principe et en donnant un exemple pour chaque règle :

3.2 Pourriez-vous proposer un 4^{ème} R ?



4. Quelle est la réglementation pour l'élimination des déchets de petits animaux (rats, souris)? (1 point)

5. Qu'est-ce qu'une zoonose ? (1 point)

6. Définir la notion de point limite en expérimentation animale. (5 points)
