

Concours : Technicien CN, BAP A, Technicien en SVT et biotechnologies, Session : 2014
Epreuve écrite d'admissibilité : Mardi 6 mai 2014 à l'Université de Bourgogne, DIJON

NOM PATRONYMIQUE :

PRENOM : NOM USUEL :

Concours : Technicien CN, BAP A, Technicien en SVT et biotechnologies, Session : 2014
Epreuve écrite d'admissibilité : Mardi 6 mai 2014 à l'Université de Bourgogne, DIJON

UNIVERSITE DE BOURGOGNE – DIJON

SESSION 2014

**CONCOURS EXTERNE
D'ACCES AU CORPS DE TECHNICIEN CLASSE NORMALE
DE RECHERCHE ET DE FORMATION
DU MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**

BAP A

EMPLOI-TYPE : Technicien en sciences de la vie et de la Terre et biotechnologies

EPREUVE ECRITE D'ADMISSIBILITE

(durée : 3 heures, coefficient : 3)

Date de l'épreuve : Mardi 6 mai 2014

Le « sujet-réponse » comporte 25 pages numérotées de 1/25 à 25/25.

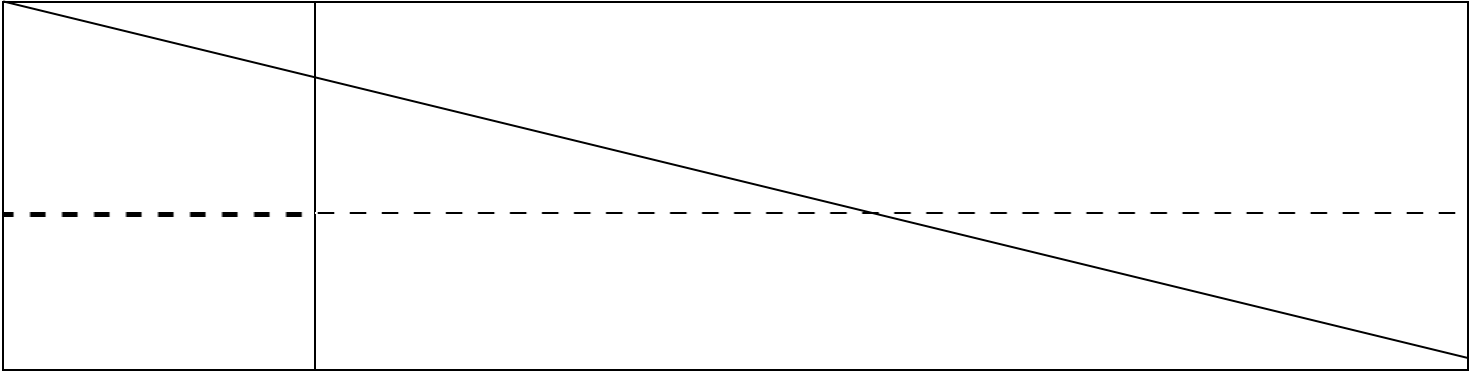
Vérifiez que votre exemplaire est complet

Le candidat doit rédiger l'épreuve écrite sur le présent document. Compléter les feuilles en respectant les emplacements réservés aux réponses et en soignant la présentation. Aucun document complémentaire ne sera accepté ni corrigé.

Tout signe permettant l'identification du candidat rendra invalide la copie et entraînera la note de 0/20.

L'USAGE DES TELEPHONES PORTABLES EST STRICTEMENT INTERDIT

L'USAGE DE LA CALCULATRICE DE POCHE EST AUTORISÉ



A- Questionnaire

(Barème : 1 point par question, soit 30 points au total pour la partie A)

Selon les questions, **une ou plusieurs bonnes réponses sont possibles**. Mettez une croix dans la ou les cases correspondantes, sauf mention particulière.

1. Quelle balance utilisez-vous pour effectuer avec précision des pesées comprises entre 0,2 g et 50 g avec une seule balance:

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

2. 2×10^{-4} litres est égal à :

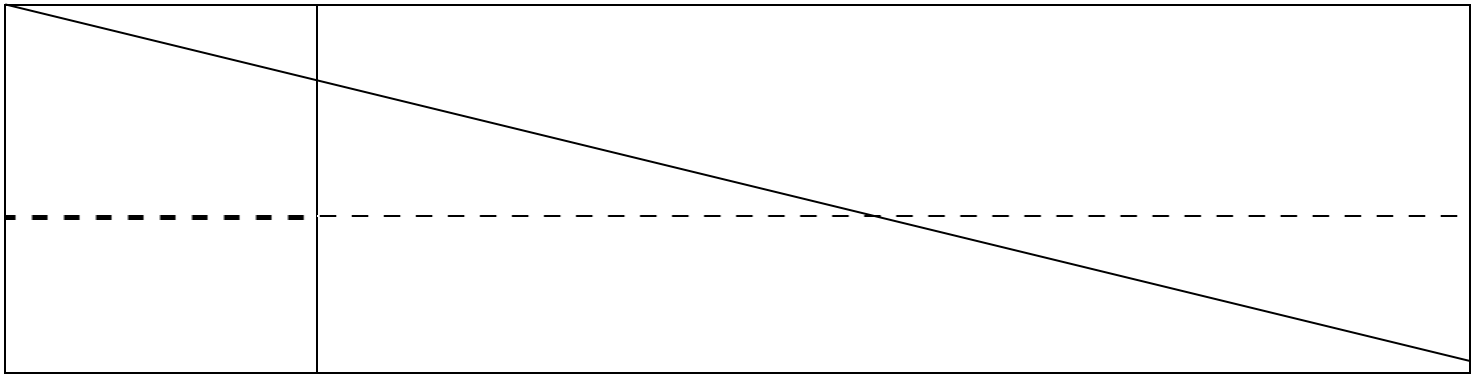
- 2 ml
- 0,2 ml
- 20 ml
- 20 μ l

3. Que vaut un nanogramme :

- 10^{-6} g
- 10^{-9} g
- 10^9 g
- 10^{-12} g
- 10^{-15} g

4. Une protéine de pI=4,6 est en solution dans un tampon pH=8,1. Quelle est la charge électrique nette à ce pH ?

- Positive
- Négative
- Neutre



5. Donnez la traduction française des mots suivants :

- wavelenght
- medium
- gloves
- buffer

6. Que signifient les abréviations suivantes :

- UMR
- HPLC
- PCR
- CNRS
- INRA

7. Pour préparer 100 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium à 2,5_{0/00} w/v (poids pour volume), vous faites dissoudre dans de l'eau :

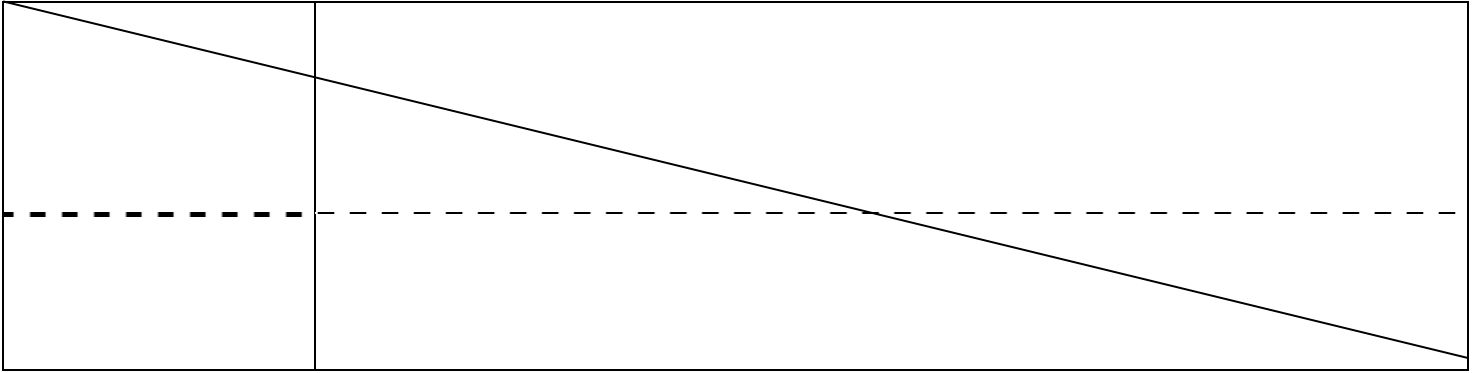
- 25 mg de NaOH
- 250 g de NaOH
- 0,25 g de NaOH
- 250 mg de NaOH

8. Qu'utilisez-vous pour amener une solution du pH10 au pH neutre :

- NaOH
- HCl
- PBS 10X
- Méthanol

9. Avec une solution de NaCl 1,5 M , vous devez préparer 400 ml d'une solution à 300 mM. Quel volume de solution 1,5 M allez-vous utiliser ?

- 80 ml
- 100 ml
- 120 ml
- 180 ml
- 120 µl



10. Pour préparer une solution de NaCl 5 mM à partir d'une solution 1 M, vous devez diluer :

- 2500 fois
- 500 fois
- 250 fois
- 200 fois

11. Quelles sont les méthodes de stérilisation d'une solution les plus couramment utilisées dans un laboratoire de recherche :

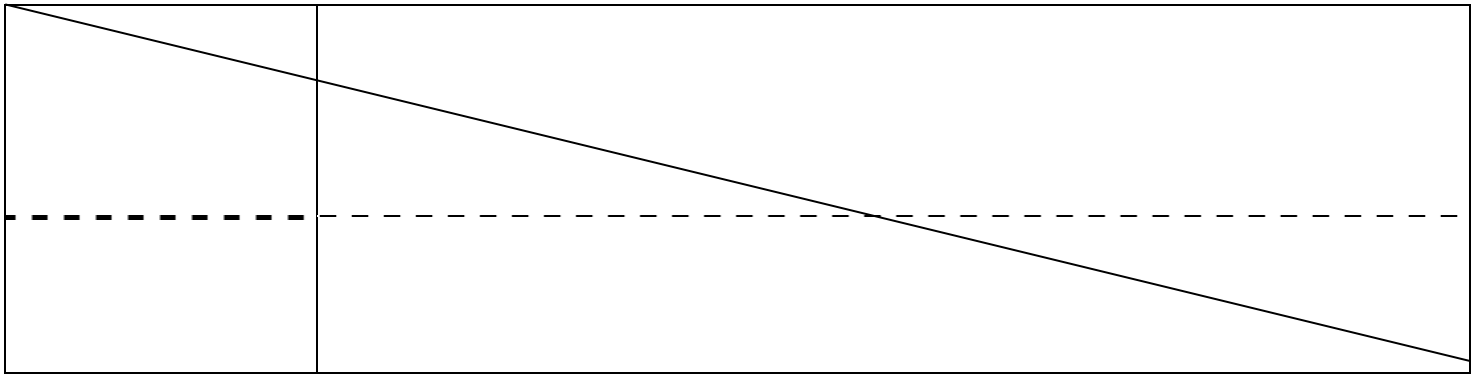
- UV
- ultrasons
- autoclave
- Savon
- Eau oxygénée
- filtration 0,22 micromètres
- eau de javel

12. Pour mesurer avec précision 0,103 ml, vous utilisez :

- une micropipette P1000
- une micropipette P200
- une micropipette P100
- une pipette Pasteur
- une seringue de 0,5ml
- une micropipette P10, et une micropipette P100

13. Afin de réaliser 1 litre d'une solution aqueuse 1M de CH₃COOH à partir du sel trihydraté:

- vous pesez plus de sel que si vous utilisiez le sel anhydre ?
- vous pesez moins de sel que si vous utilisiez le sel anhydre ?
- vous pesez autant de sel que si vous utilisiez le sel anhydre ?
- vous mélangez la quantité de sel pesée à 1 litre d'eau ultrapure ?
- vous mélangez la quantité de sel pesée à une quantité ajustée à 1 litre d'eau ultrapure?



14. Quel est le nombre minimum de nucléotides de la séquence génétique codant pour une protéine contenant 400 acides aminés ?

- 400
- 800
- 1200
- 1600

15. Faites les conversions suivantes :

- 1 ng = g
- 10^4 pmoles = nmoles
- 10 μ moles = mole
- 10 nm = mm
- 0,1 Mb = kb
- 3,33 dl = ml

16. Dans un protocole en anglais, vous lisez : « Discard the supernatant and re-suspend the pellet ». Que faites-vous ?

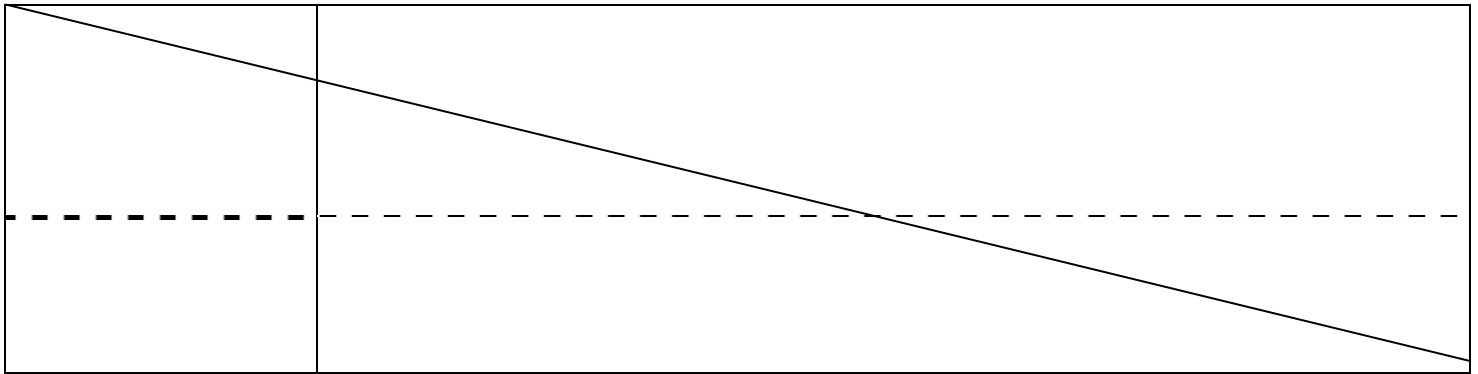
- vous jetez le surnageant et vous remettez le culot en suspension ?
- vous gardez le surnageant et vous jetez le culot ?
- vous dissolvez le culot dans le surnageant ?
- vous reprenez le surnageant dans un tube propre ?

17. Sous l'effet d'un champ électrique, les acides nucléiques migrent vers :

- l'anode
- la cathode
- l'une ou l'autre suivant leur charge

18. Lors d'une électrophorèse, les macromolécules les plus volumineuses migrent

- le plus vite
- le plus lentement
- l'un ou l'autre suivant leur taille



19. Quelle est nom de la technique d'identification de protéines sur membrane après une électrophorèse :

- Elisa
- Northern blot
- Southern blot
- Western blot

20. A quoi sert une solution tampon ?

- A stabiliser le pH d'une solution
- A acidifier une solution
- A favoriser les écarts de pH
- A augmenter la concentration saline d'une solution
- A favoriser le mélange de 2 solides

21. Pour obtenir une solution au 3/20^{ième}, il faut diluer :

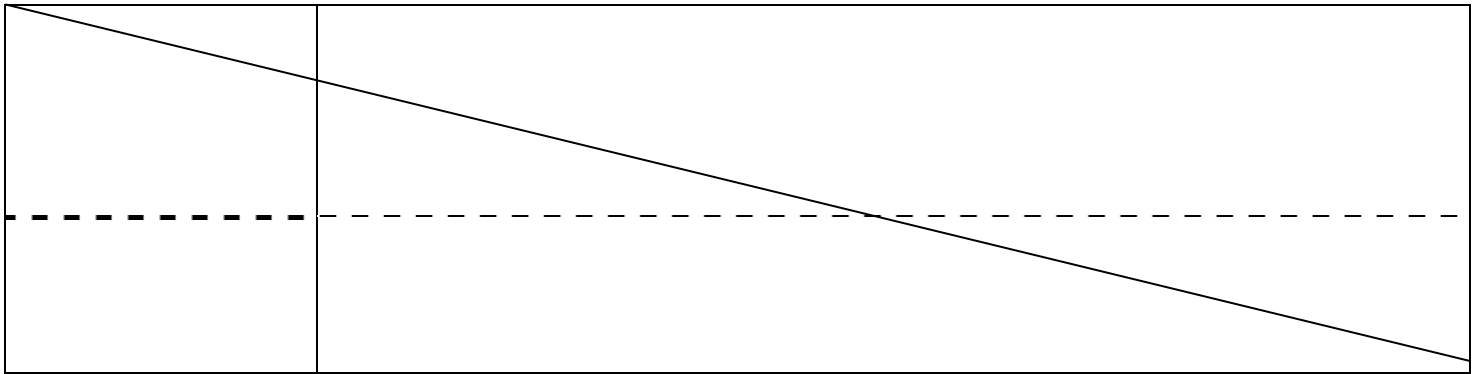
- 3 ml de solution et 20 ml de diluant
- 20 ml de solution et 3 ml de diluant
- 6 ml de solution et 24 ml de diluant
- 6 ml de solution et 34 ml de diluant

22. La technique de la transfection transitoire permet d'introduire dans une cellule :

- de l'ADN plasmidique
- une protéine
- un virus
- une substance chimique

23. Pour éviter une éventuelle contamination bactérienne dans les cultures cellulaires, vous utilisez :

- un anti fongique
- un anti viral
- un antibiotique
- un anti-inflammatoire



24. La mitose :

- Contribue à la prolifération cellulaire
- Comprend 3 phases
- Permet le brassage génétique au sein des populations
- Est caractéristique des cellules différenciées
- Aucune réponse n'est exacte

25. La méiose :

- Concerne tous les types cellulaires
- Donne deux cellules filles identiques à la cellule mère
- Donne quatre cellules filles identiques à la cellule mère
- Réduit de moitié le nombre de chromosomes
- Aucune réponse n'est exacte

26. Le nucléotide est :

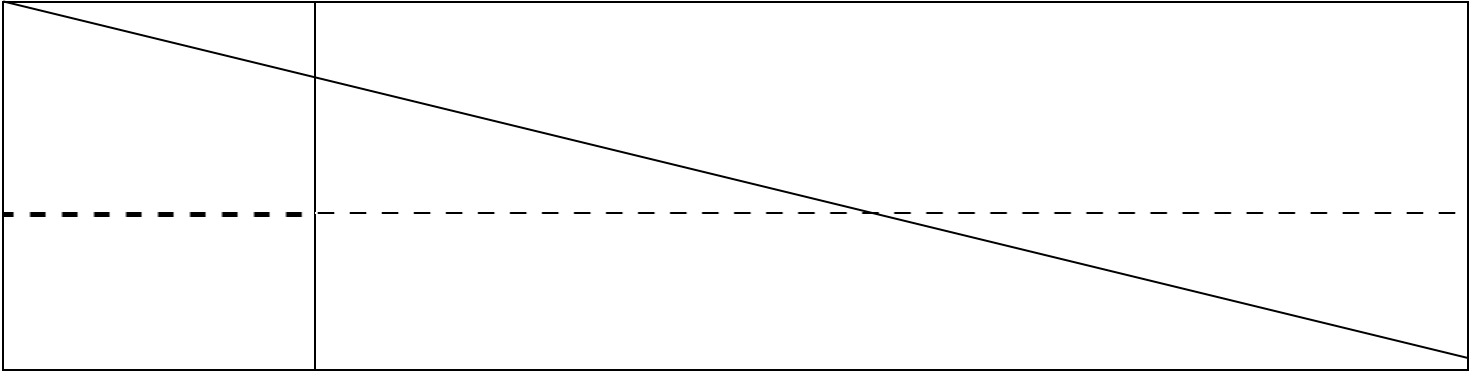
- La sous unité constitutive des protéines
- Constitué d'un sucre associé à un acide aminé et à des groupements phosphates
- La sous unité constitutive des acides nucléiques
- Un déchet du métabolisme cellulaire
- Aucune réponse n'est exacte

27. Un codon :

- Est un ensemble de trois acides aminés
- Peut coder pour le même acide aminé qu'un autre codon
- Est un ensemble de quatre nucléotides
- Peut coder pour plusieurs acides aminés
- Aucune réponse n'est exacte

28. Le code génétique :

- Permet de décrypter l'information portée par l'ADN
- Permet de décrypter l'information portée par les protéines
- Permet directement la synthèse des lipides
- Est spécifique à chaque individu
- Aucune réponse n'est exacte



29. Un intron :

- Est une partie codante d'un gène
- N'est pas transcrit
- Est éliminé lors de l'épissage au niveau de l'ARN
- Est une partie non fonctionnelle d'une protéine
- Aucune réponse n'est exacte

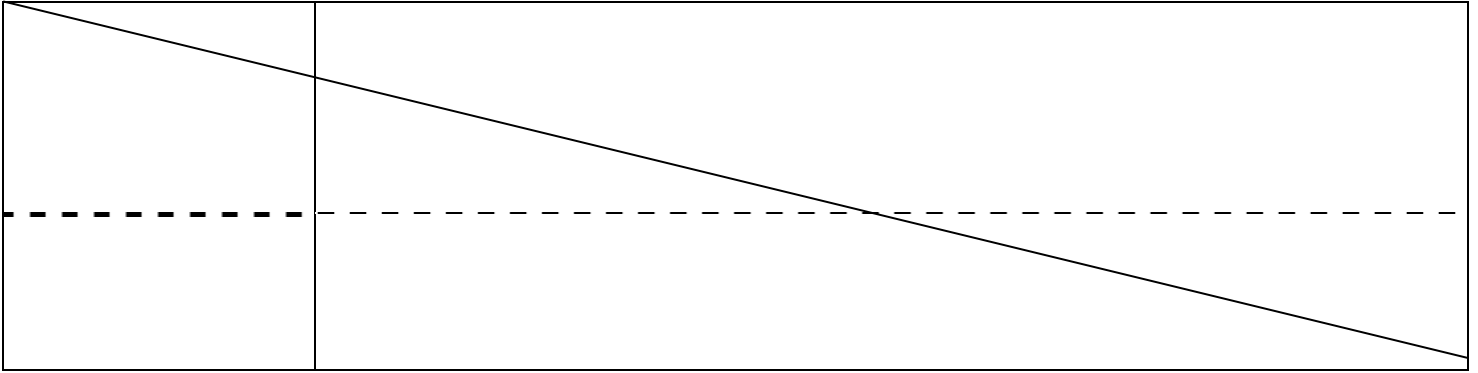
30. Un exon :

- Est une partie codante d'un gène
- N'est pas transcrit
- Est éliminé lors de l'épissage au niveau de l'ARN
- Est une partie non fonctionnelle d'une protéine
- Aucune réponse n'est exacte

B. Questions nécessitant une rédaction

Biologie moléculaire (30 points)

31. Comment quantifieriez-vous des protéines ? (3 points)



32. Donnez le principe de la cytométrie en flux. Donnez au moins quatre exemples d'applications ? (5 points)

33. Voici la séquence d'un brin d'ADN contenant un gène que l'on souhaite amplifier par PCR : (10 points)

A- (5 points)

5' - GGGAGTGGGTAATTTGCGC [gène d'intérêt] - AAAGTGTACTCATTCCGATT 3'

Vous disposez en stock de 4 amorces (A, B, C, D) pour cette amplification :

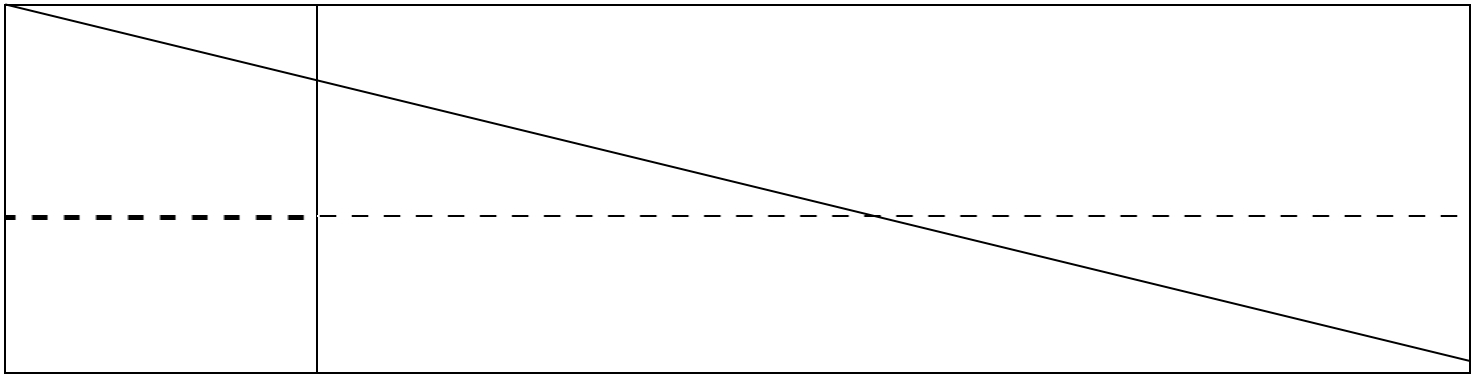
A : 5' - AAAGTGTACTCATTCCGATT - 3'

B : 5' - GGGAGTGGGTAATTTGCGC - 3'

C : 5' - AATCGGAATGAGTACACTTT - 3'

D : 5' - TTTCACATGAGTAAGGCTAA - 3'

- Quelles amorces utiliseriez-vous ?

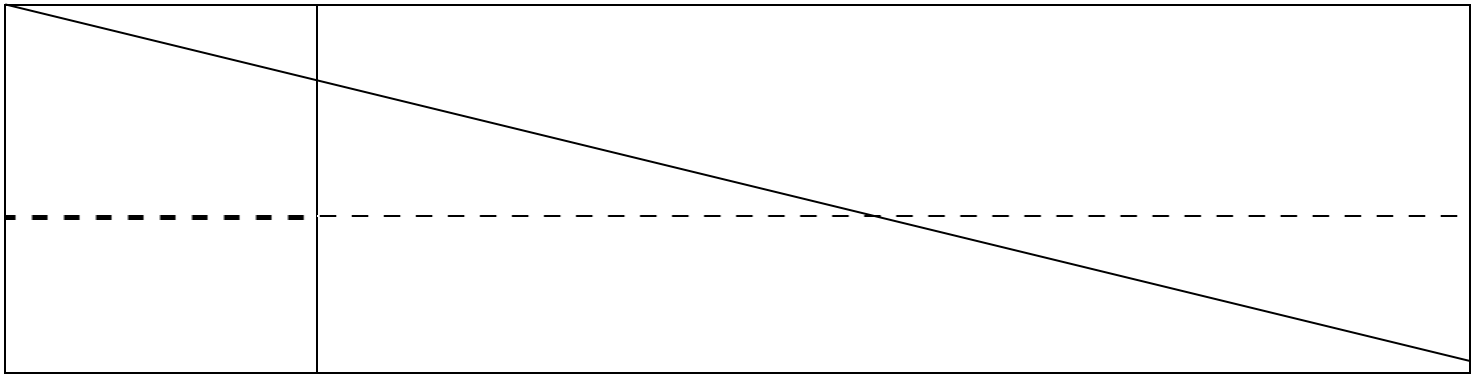


- Pourquoi ?

B- (5 points)

Pour réaliser la PCR, vous devez préparer un mélange réactionnel. Vous disposez :

- d'une solution de $MgCl_2$ à 25mM,
- d'un mélange de dNTP à 10mM,
- d'amorces Forward et Reverse en solution à 100 μ M,
- de tampon Go taq 5X et
- de Taq polymérase à 5U/ μ L.
- ADN (témoin / ou échantillon) 1 μ g/ μ l
- d'eau MilliQ pour réaliser les dilutions nécessaires.
- de micropipettes de 200-1000 μ L, 20-200 μ L, 2-20 μ L et 0,2-10 μ L et cônes DNase free adaptées
- de microtubes DNase free de 1,5mL
- de microtubes PCR de 0,2mL



Quel volume de chaque constituant devez-vous mettre par microtube de PCR ? la **concentration finale** est indiquée :



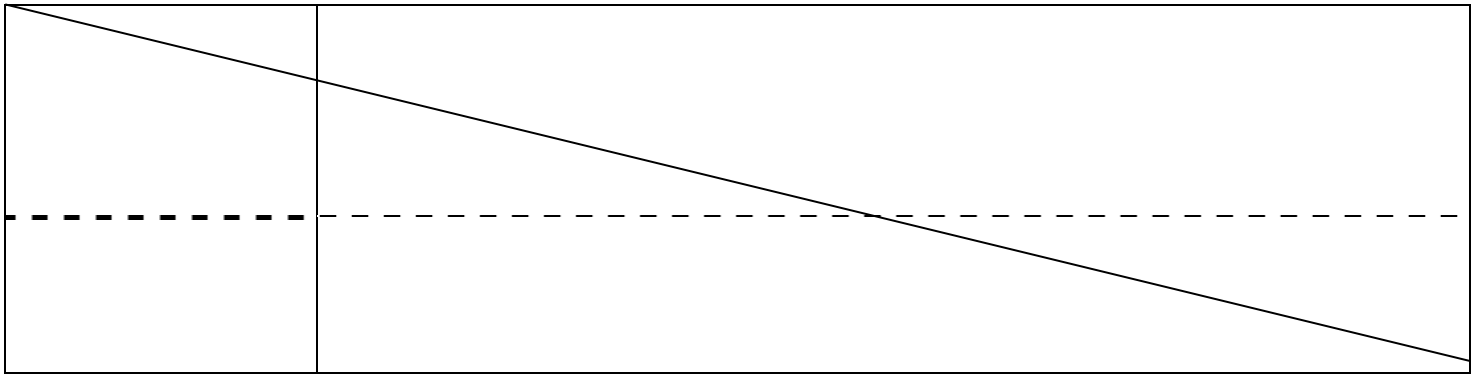
- ▶ ... μL Tampon Go taq **1X**
- ▶ ... μL MgCl_2 **1,5mM**
- ▶ ... μL dNTPs **0,2mM**
- ▶ ... μL Amorce Forward **1 μM**
- ▶ ... μL Amorce Reverse **1 μM**
- ▶ ... μL Taq polymérase **1,25U/tube**
- ▶ ... μL ADN **50ng /tube**

QSP 50 μL /microtube

- Comment préparez-vous ce « mix PCR » sachant que vous avez 15 échantillons à identifier ?

Quelles précautions prenez-vous ?

- Une fois la PCR réalisée, comment analyseriez-vous le produit PCR ?
- Décrivez précisément toutes les étapes.



34. (6 points)

34a- l'objectif est de cloner un gène X dans un plasmide pCMV circulaire vous disposez : (4 points)

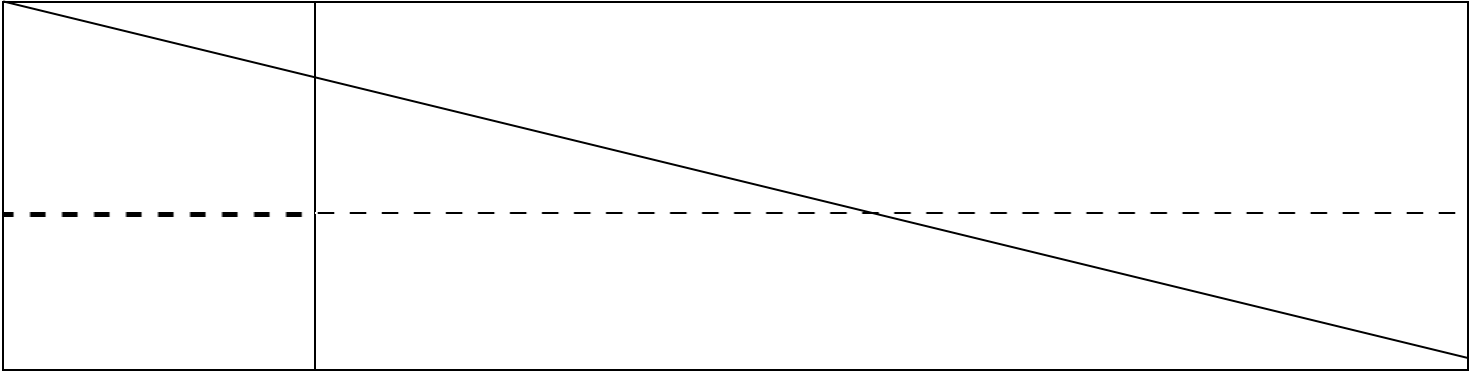
- de bactéries compétentes (DH5alpha) prêtes à l'emploi.
- du fragment d'ADN du gene X déjà purifié aux extrémités franches (EcoRV)
- du plasmide circulaire pCMV digérable par EcoRV (une enzyme de restriction générant des extrémités franches).
- de milieu de culture solide (LB Agar +antibiotique) et liquide (LB)

Remettez dans l'ordre chronologique les opérations (non détaillées) ci-dessous, le début 1 et la fin 8 vous sont donnés

	Ordre
a -Transformation bactérienne par le plasmide construit	
b -Culture bactérienne en milieu liquide non sélectif	
c -Ligation de l'insert purifié et du plasmide pCMV linéarisé	
d- Sélection de 20 clones et extraction du plasmide des clones bactériens par la technique de lyse ménagée « miniprep »	
e - Linéarisation / digestion par EcorV du plasmide pCMV	1
g - Déphosphorylation des extrémités du plasmide linéarisé par la phosphatase alcaline de veau, puis purification du plasmide pCMV	
h - Etalement et Culture bactérienne la nuit en milieu solide sélectif	
i – Digestion des clones par EcorV, puis dépôt sur gel d'électrophorèse d'agarose BET /sélection des clones positifs sous UV après migration	8

34b. Dans l'expérience schématique décrite précédemment (question 32.A), lors du clonage du gène X dans le plasmide pCMV, quel(s) témoin(s) devez-vous faire lors de la ligation ? : (2 points)

- un témoin plasmide pCMV linéarisé par EcorV sans insert et sans ligase
- un témoin insert, sans ligase
- un témoin plasmide pCMV linéarisé par EcorV sans insert et avec ligase
- un témoin insert avec ligase
- un témoin plasmide pCMV linéarisé par EcorV et déphosphorylé seul et avec ligase
- un témoin plasmide pCMV circulaire



35. Immunization (6 points)

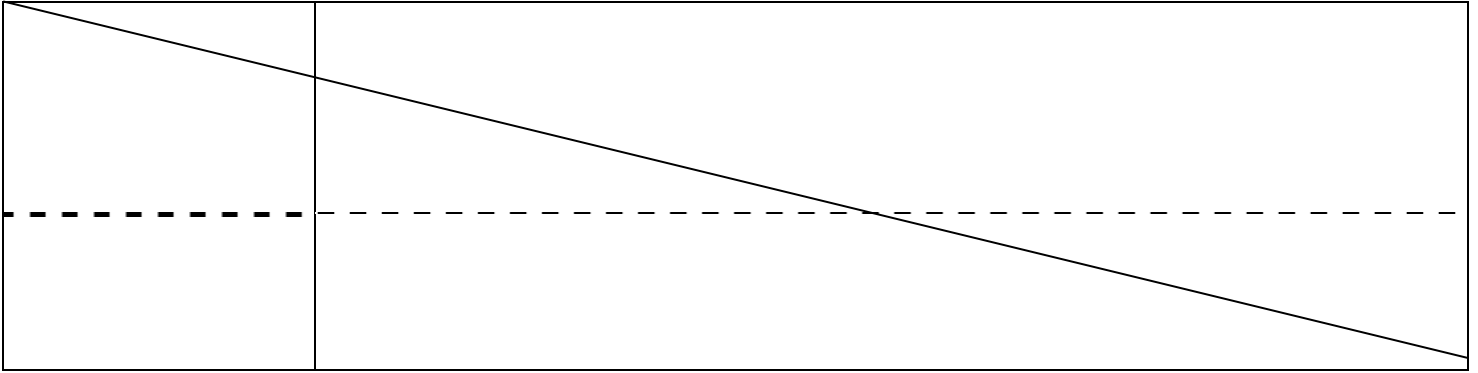
For mouse x mouse hybridoma preparations. Immunization schedules can vary depending on the antigen used, but usually Balb/c mice, 8-12 weeks old, are immunized as follows.

Two primary injections within one month. Subcutaneous + or - Complete Freund's Adjuvant with 10-50 μ g antigen (CFA/antigen 1:1 vol.). Use six mice. Then 8-10days after the last immunizing injection, determine the serum antibody titer for each mouse using a RIA or ELISA.

The minimum serum antibody titer of the immunized mice prior to hybridoma preparation ideally should be approximately 50% reactivity at a dilution of 1/2500. If the titer is low give further immunizations subcutaneously with incomplete Freund's adjuvant.

Within two months after the last immunization, the fusion priming injection of antigen, in PBS, is given I.V. 34 days later the cell fusion is performed.

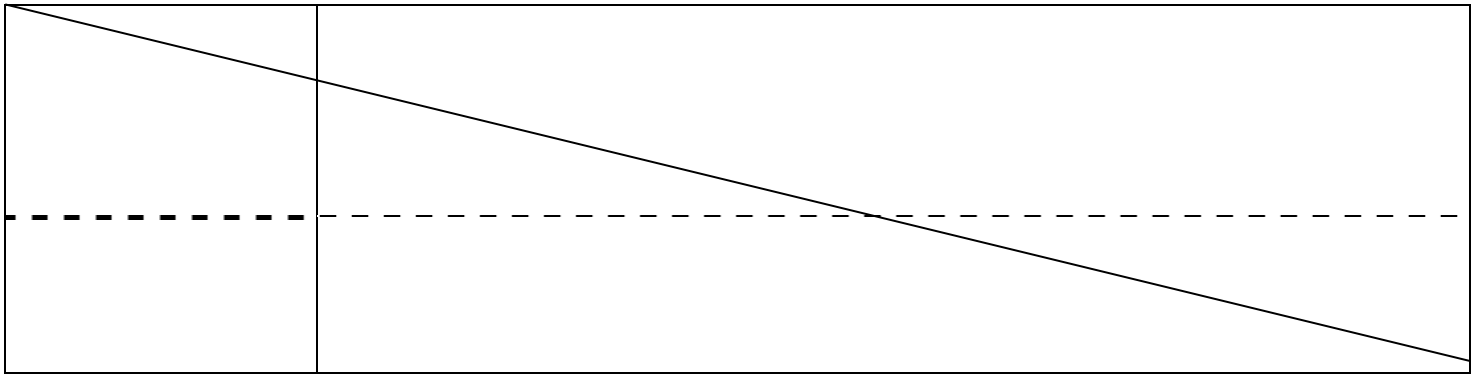
- Résumez en français les grands points de la technique décrite ci-dessus. (4 points)



- A quoi sert l'adjuvant de Freund ? **(0,5 point)**

- Qu'est-ce que la technique de la « fusion » ? **(1 point)**

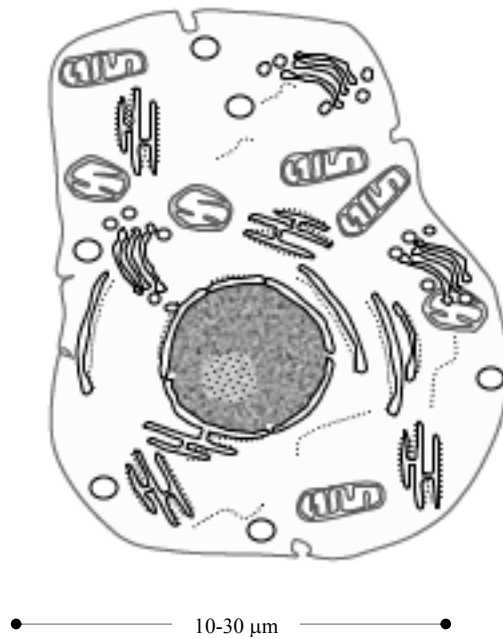
- Qu'est-ce qu'un hybridome ? **(0,5 point)**

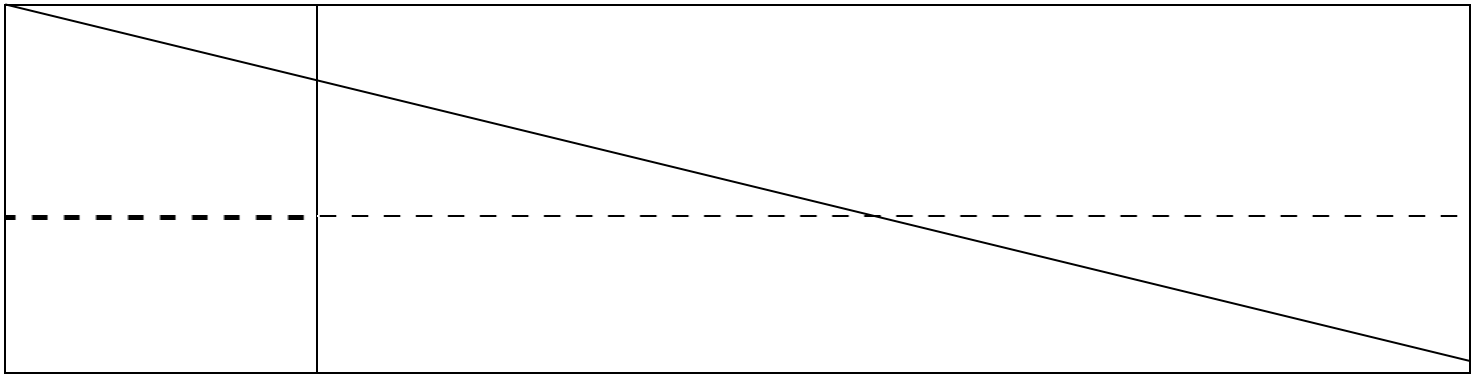


Microbiologie – Biologie cellulaire (30 points)

36. Placez les légendes sur ce schéma (4 points)

Mitochondrie, membrane cytoplasmique, appareil de Golgi, lysosome, noyau, membrane nucléaire, nucléole, réticulum endoplasmique, ribosome, cytoplasme (cytosol), pore nucléaire.





37. Etude d'un plat d'épinard (8 points)

Une intoxication alimentaire collective a lieu après ingestion d'épinard à la crème. L'enquête révèle que cet aliment, congelé à l'origine, a été conservé plusieurs jours à 5°C avant sa consommation.

Au cours de l'étude bactériologique réalisée sur les restes de l'aliment suspect, on procède au dénombrement des bactéries aérobies psychrophiles et à la recherche de *Salmonella*.

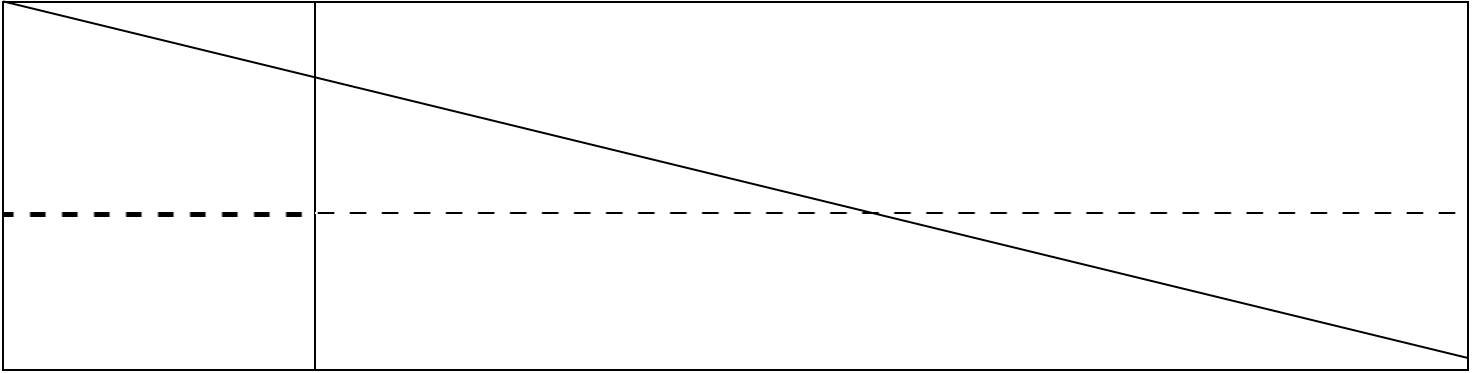
37a. Dénombrement des bactéries aérobies psychrophiles

1. Définissez les termes « aérobies » et « psychrophiles ». (1 point)

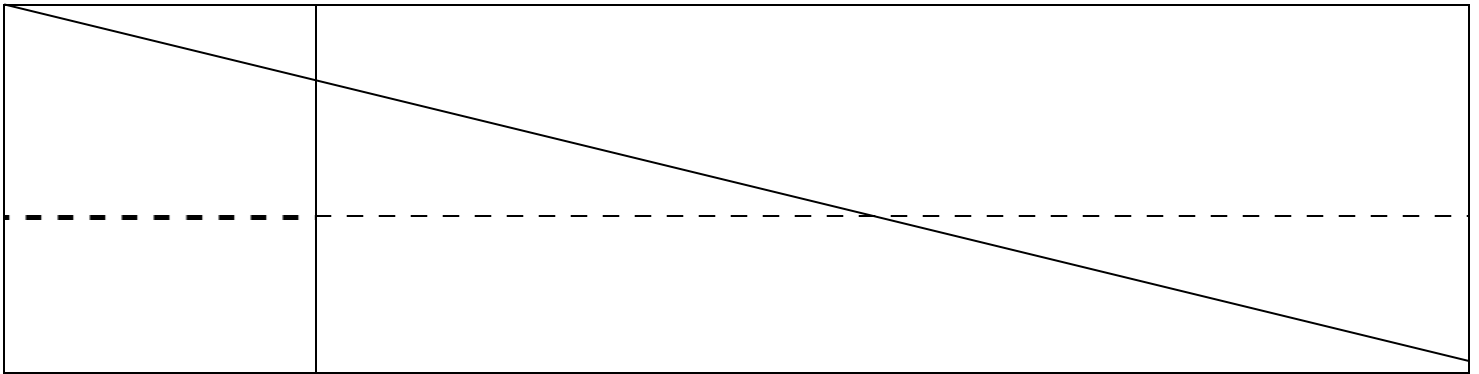
Dans quel but procède-t-on à ce dénombrement ? (1 point)

2. On prépare une suspension mère en broyant 10 g d'épinards dans 90 mL d'eau physiologique. Puis on réalise 5 dilutions décimales de cette suspension. On ensemence dans la masse 2 géloses TSA pour chaque dilution. Après 60 h d'incubation, on dénombre les colonies. Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Inoculum : 1 mL de chaque dilution de la suspension mère		
Dilution 10 ⁻¹	Boite 1	Trop nombreuses
	Boite 2	Trop nombreuses
Dilution 10 ⁻²	Boite 1	Trop nombreuses
	Boite 2	Trop nombreuses
Dilution 10 ⁻³	Boite 1	430
	Boite 2	390
Dilution 10 ⁻⁴	Boite 1	52
	Boite 2	48
Dilution 10 ⁻⁵	Boite 1	3
	Boite 2	5



Calculez le nombre de bactéries psychrophiles par gramme d'aliment. **(3 points)**



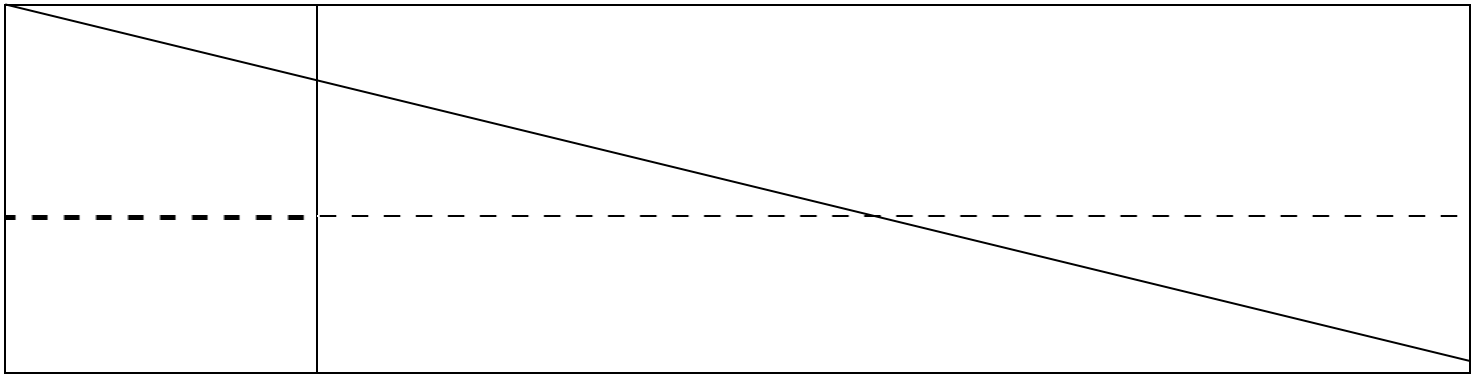
37b. Recherche de *Salmonella* (3 points)

On prépare un aliment en broyant 25 g d'épinard à la crème dans 225 mL d'eau peptonée. Après 20 h d'incubation à 37°C, on ensemence 1 mL de ce broyat dans un bouillon sélénite. Au bout de 24 h, on étale 1 goutte de culture en bouillon sélénite sur une gélose DCL, puis on incube 24 h à 37°C.

1. Précisez les rôles de l'eau peptonée et du bouillon sélénite.
2. Donnez le rôle de chaque constituant de la gélose DCL.
3. Décrivez l'aspect des colonies suspectes et en donner la signification biochimique.

Composition de la gélose DCL :

- peptone 10g
- lactose 5g
- citrate de sodium 10.5g
- désoxycholate de sodium 5.5g
- rouge neutre 0.03g
- chlorure de sodium 5g
- agar 12g
- eau distillée qsp 1000 mL



38. Préparation d'un TP de Biotechnologie Végétale (6 points)

Vous devez préparer des Travaux Pratiques de Biotechnologie Végétale pour deux groupes de huit étudiants chacun.

Le TP consiste à transformer des plants de *Nicotiana tabacum* par infiltration d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens* contenant un vecteur pBIN-Plus portant la construction 35S-GUS (35S étant le promoteur et GUS le gène rapporteur).

72H après infiltration des feuilles, des explants sont prélevés dans les zones infiltrées, désinfectés puis mis en culture sur du milieu Murashige & Skoog (MS) solide (Agar-Agar à 8g/L) complété avec de l'acide β -indole butyrique (IBA) (auxine à la concentration finale de 0.1mg/L), de la 6-benzylaminopurine (BAP) (cytokinine à la concentration finale de 0.8mg/L) ainsi que des antibiotiques.

Chaque étudiant a besoin de :

- 1 boîte de Petri contenant du milieu MS complété contenant en plus de la carbénicilline à la concentration finale de 100mg/L et du timentin (ticarcilline/acide clavulanique 15 :1) à la concentration finale de 200mg/L appelé **milieu MSa**
- 2 boîtes de Petri du même milieu que précédemment contenant en plus de la Kanamycine à la concentration finale de 150mg/L appelé **milieu MSb**

Avec l'aide des données suivantes ;

1-Indiquez comment vous procédez pour préparer le nombre suffisant de boîtes de Petri pour tous les étudiants.

2-Indiquez également votre choix concernant le procédé de stérilisation des composés.

Données :

Volume approximatif nécessaire pour couler une boîte de Petri : 25mL

Milieu MS : base déshydratée. Dissoudre 2.65g pour 1L de milieu.

IBA : solution mère à 1mg/mL. Attention, composé thermolabile.

BAP : solution mère à 0.8 mg/mL.

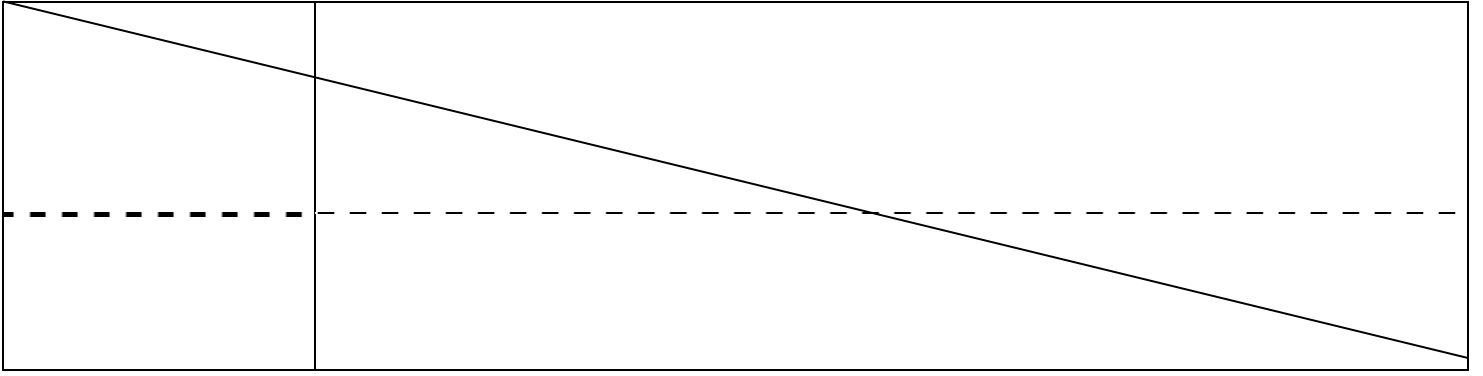
Carbénicilline : solution mère à 200 mg/mL. Attention, composé thermolabile.

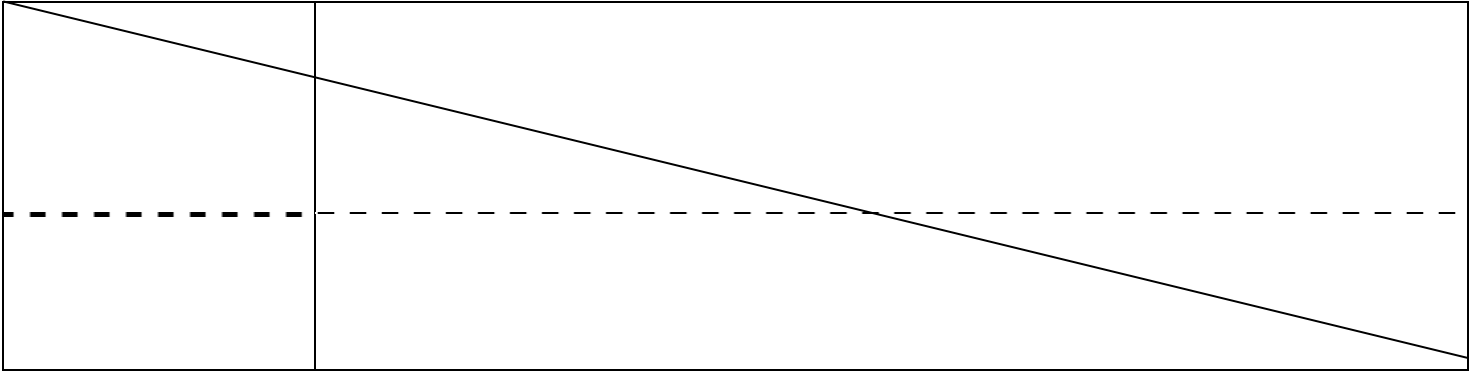
Timentin : solution mère à 200 mg/mL. Attention, composé thermolabile.

Kanamycine : solution mère à 100 mg/mL.

Autoclave

Filtres 0,2 μ m





39. (6 points)

Vous devez préparer 50mL de mélange réactionnel DNA Yeast afin d'extraire l'ADN de levures

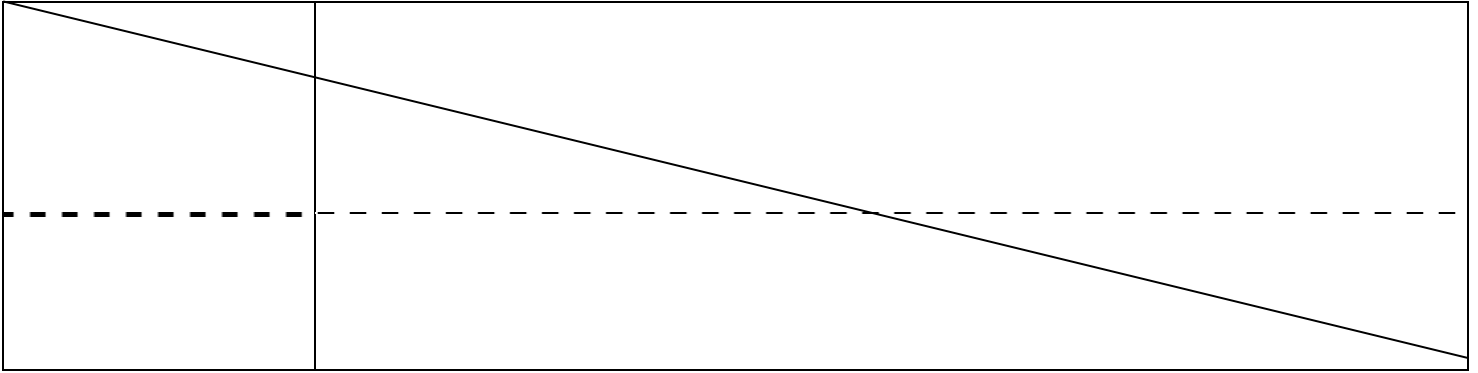
Composition finale :

- Triton X-100 à 2% (v/v)
- SDS à 1% (w/v)
- NaCl à 100mM
- Tris HCl à 10mM
- EDTA à 1mM
- pH8, 0

Vous disposez de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) (M=288,37), de Tris HCl (M=121,1), d'EDTA (M=372,2), de NaCl (M=58,44) et de Triton liquide 100X.

- Comment procédez-vous pour préparer 50mL de mélange réactionnel.
- Vous devez ajuster le pH à 8.

Décrivez toutes les étapes que vous allez réaliser.

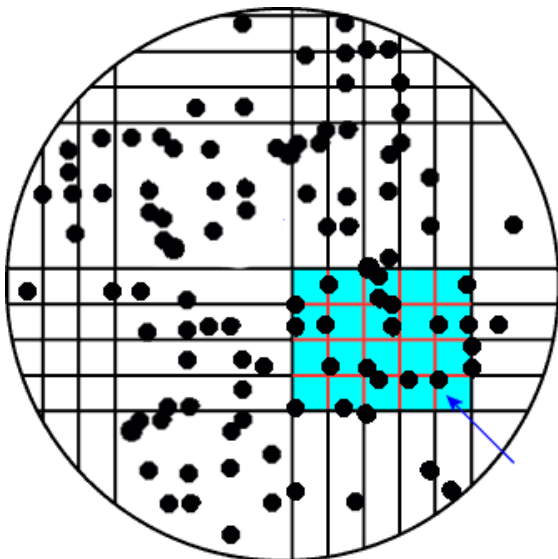


40. Numération de cellules sur MALASSEZ. (6 points)

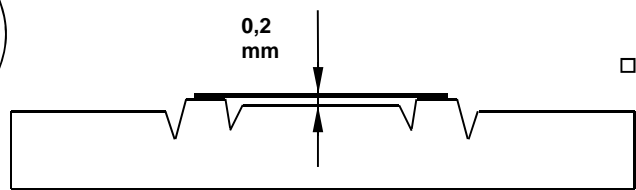
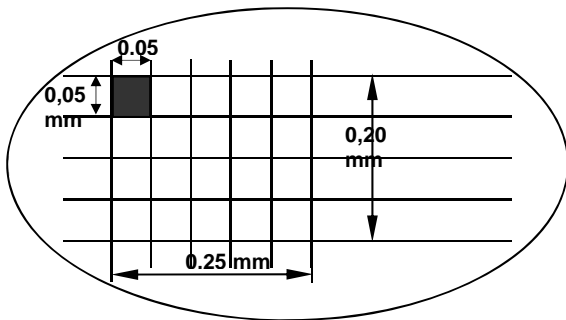
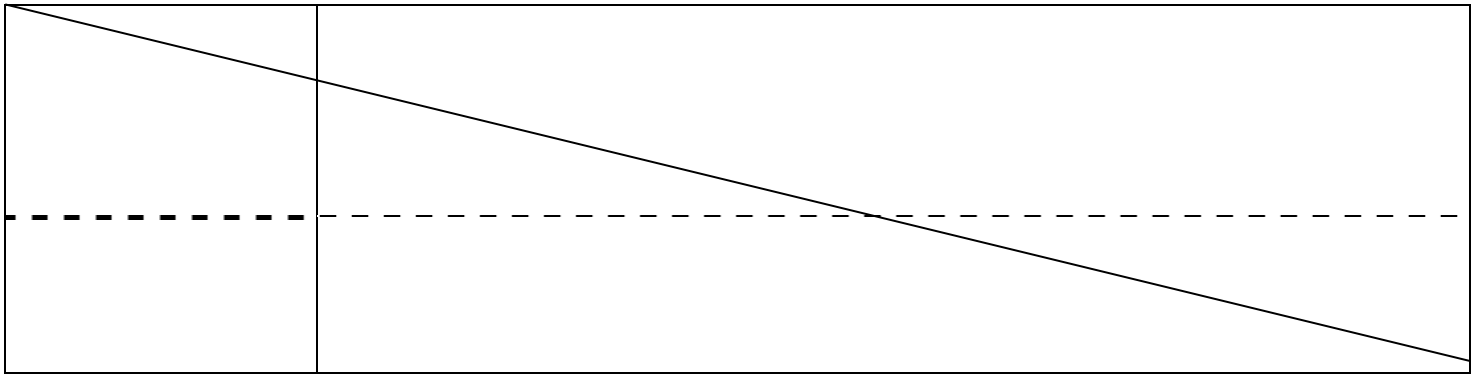
La cellule Hématimétrique de Malassez permet de dénombrer les cellules totales (viables et non viables) d'une suspension par microscopie optique.

Vous disposez d'une suspension cellulaire de 4,5 ml.

Sur le dessin sont représentées les cellules (chaque point noir) observées au microscope.



40a- Combien et comment comptez-vous de cellules dans le rectangle bleu quadrillé qui représente un volume de $1/100$ de mm^3 ?

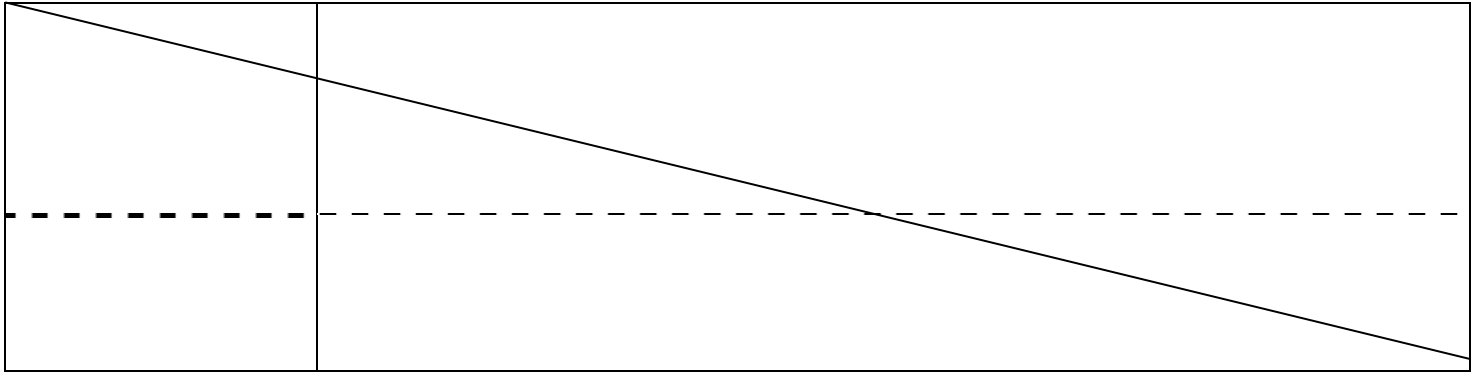


Enfin vous avez dilué votre suspension au $\frac{1}{2}$ avant de la déposer sur l'hématimètre.

40b- Quelle est la concentration finale de cellules totales (viables et non viables) dans la suspension (nombre de Cellules/ml de suspension) ?

40c- Comment différenciez-vous les cellules viables, des non viables ?

Expliquez vos réponses



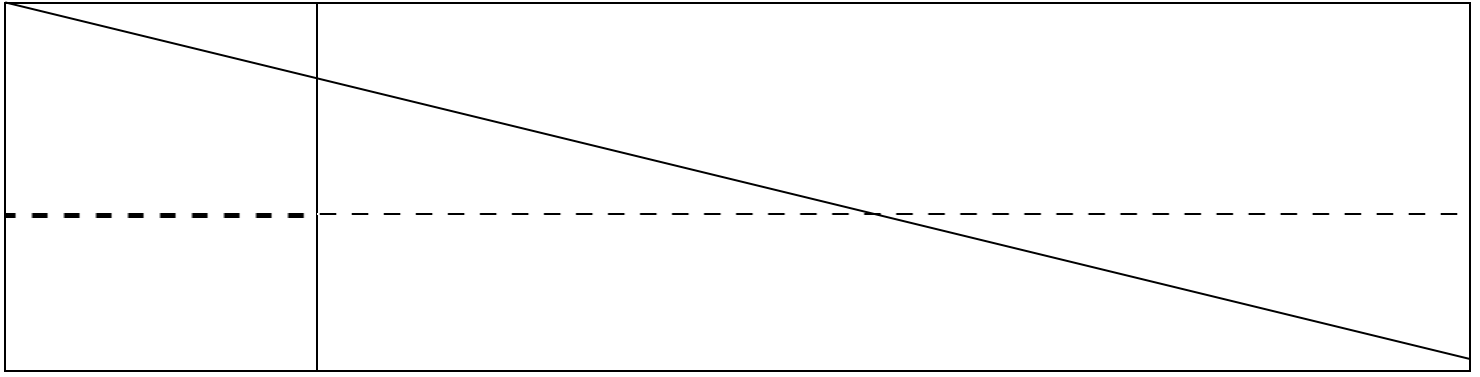
Hygiène et sécurité (10 points)

41. Quelles protections minimales faut-il utiliser pour manipuler les produits suivants dès que vous travaillez dans un laboratoire de biologie ? (4 points)





Cochez les cases correspondantes.

	Blouse	Gants	Lunettes	Masque	Sorbonne	Protection inutile
Bromure d'éthidium en solution						
Azote liquide						
Acrylamide en poudre						
Phénol						
Méthanol						
HCl 12M						
Souris de laboratoire						
H2O déminéralisée						

42. Une bonbonne de phénol s'est déversée sur la paillasse. Un étudiant a mis la main dedans. Que faites-vous. (3,5 points)



43 Donnez la signification de chaque pictogramme (2,5 points).

1.		
2		
3		
4		
4	