

**MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE**

Université de Strasbourg

CONCOURS DE RECRUTEMENT EXTERNE

DE TECHNICIEN

DE RECHERCHE ET FORMATION

BAP : A

**EMPLOI TYPE : TECHNICIEN EN PRODUCTION ET EXPERIMENTATION
VEGETALE**

SESSION 2011

Epreuve écrite d'admissibilité

Durée : 3 H - coefficient 3

Mardi 10 mai 2011 de 09h00 à 12h00

Le sujet comporte 16 pages (y compris celle-ci) + 1 feuille de papier millimétré.

L'usage d'une calculatrice non graphique et non programmable est autorisé.

Questions à choix multiples:

- il peut y avoir plusieurs réponses possibles par question
- 1 point par question lorsque toutes les bonnes réponses sont données

1/ Dans une cellule eucaryote, l'ADN est :

- bicaténaire binaire monocaténaire monozygote

2/ L'ADN est une macromolécule support de :

- la synthèse de protéines l'information génétique
 la production d'énergie la reconnaissance antigène-anticorps

3/ Les bases azotées de l'ADN s'apparient deux à deux selon le schéma :

- A-C et T-G A-T et G-C A-G et T-C

4/ La production d'une molécule d'ARN à partir d'un segment d'ADN est appelée :

- transcription traduction épissage réplication

5/ Le (les) constituant(s) cellulaire(s) suivant(s) se trouve(nt) dans les cellules végétales et dans les cellules animales :

- paroi pecto-cellulosique chloroplastes appareil de Golgi mitochondries

6/ Lequel (lesquels) n'est (ne sont) pas des instrument(s) dit(s) "de mesure"

- éprouvette graduée pipette graduée pipette Pasteur becher

7/ La réduction d'un élément se traduit par:

- une perte d'électron un gain d'électron
 une perte ou un gain d'électron ni l'un, ni l'autre

8/ Le composé organique de formule CH_3COOH se nomme:

- acide acétique acide propionique éthanol éthanal

9/ Un anticodon:

- est constitué de 3 acides aminés se trouve sur l'ARNt
 se trouve sur l'ADN se trouve sur l'ARNm

10/ Un intron:

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

11/ Dans une cellule eucaryote végétale, l'information génétique est contenue:

- dans le noyau dans les mitochondries dans le cytoplasme
 dans les ribosomes dans les chloroplastes

12/ Les mitochondries permettent:

- la prolifération des cellules procaryotes la production d'ATP
 la production d'O₂ la synthèse de chlorophylle

13/ La levure est:

- une bactérie une plante un champignon un virus

14/ La dialyse est une technique qui utilise:

- le courant électrique la force centrifuge la diffusion la précipitation

15/ L'électrophorèse est une technique d'analyse permettant:

- l'étude des électrons d'un atome
 l'étude des doubles liaisons d'une molécule organique
 la séparation de molécules
 de mesurer le potentiel électrique d'une solution

16/ La masse moléculaire d'une protéine peut être déterminée par:

- spectrophotométrie
 filtration sur gel
 électrophorèse en gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes
 chromatographie par échange d'ions

17/ Laquelle des propositions suivantes définit l'activité spécifique d'une enzyme?

- quantité de produit formé par minute et par mg de protéine
 activité d'une enzyme en présence de son substrat préféré
 quantité d'enzyme produisant la transformation de 1 μ mole de substrat par minute dans des conditions standard
 activité d'une enzyme en relation avec la préparation standard de l'enzyme
 quantité d'enzyme qui donne naissance à 1 mole de produit par seconde dans les conditions standard

18/ Le CNRS est:

- un organisme public de recherche
- une société anonyme à responsabilité limitée
- un établissement public d'intérêt commercial
- placé sous la tutelle du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche
- un institut national de recherche agronomique
- un établissement public à caractère scientifique et technologique
- un établissement universitaire

19/ Les cellules végétales diffèrent essentiellement des cellules animales :

- parce que leur noyau est beaucoup plus petit
- parce qu'elles sont entourées d'une paroi pectocellulosique
- parce qu'elles contiennent des plastes
- parce qu'elles ont une grande vacuole

20/ Si l'on compare deux acides aminés, l'arginine et l'acide glutamique, pour une valeur de pH de 7, laquelle des propositions suivantes est vraie?

- les deux acides aminés ont une charge globale nulle
- les deux acides aminés ont une charge globale positive
- les deux acides aminés ont une charge globale négative
- l'arginine a une charge globale négative, l'acide glutamique a une charge globale positive
- l'acide glutamique a une charge globale négative, l'arginine a une charge globale positive

21/ Une longueur d'onde de 260 nm se situe dans:

- visible IR proche IR UV

22/ Après utilisation, le phénol usagé doit être éliminé:

- à l'évier
- dans les fûts à solvants chlorés
- dans les fûts à solvants non chlorés
- dans les fûts d'acides
- dans les fûts de bases

23/ Vous recevez une goutte d'acide sulfurique dans l'œil, que faites-vous?

- appeler les pompiers
- rincer immédiatement l'œil 5 min sous l'eau
- rincer immédiatement l'œil 15 min sous l'eau
- neutraliser avec de la soude de titre équivalent
- prévenir le service médical

24/ *Arabidopsis thaliana*:

- est une plante appartenant à la famille des Brassicacées
- est une graminée
- possède le plus petit génome végétal connu
- est une plante modèle

25/ Le tabac:

- est une plante monocotylédone
- est une plante dicotylédone
- fait partie de la famille des Solanacées
- fait partie de la famille des Fabacées

26/ Laquelle de ces plantes appartient aux dicotylédones ?

- le riz
- le blé
- la tomate
- la pomme de terre

27/ La fonction respiratoire chez les plantes

- se réalise dans les chloroplastes et est caractérisée par l'activité de NAD(P)H déshydrogénases
- se réalise dans les chloroplastes et est caractérisée par un transfert d'électrons dans la membrane des thylacoïdes
- se réalise dans les mitochondries et est caractérisée par l'activité de NAD(P)H déshydrogénase
- se réalise dans les mitochondries et est caractérisée par un transfert d'électrons

28/ L'ensemble des caractères observés chez un individu constitue :

- le génotype
- le caryotype
- le phénotype
- l'écotype
- le sérotype

29/ Au cours de la construction d'une population de lignées recombinantes, chaque génération d'autofécondation permet :

- de favoriser l'hétérozygotie
- d'augmenter l'homozygotie
- d'améliorer la variabilité
- de sélectionner les caractères d'intérêt

30/ Qu'enlève-t-on pour castrer une fleur ?

- les ovules
- les étamines
- le stigmate

31/ Vous voulez peser avec une précision au millième un échantillon d'environ 3g et vous disposez de balances ayant les caractéristiques ci-dessous. Laquelle utilisez-vous?

- Portée 1 g ; précision 0,0001 g
- Portée 10 g ; précision 0,01 g
- Portée 100 g ; précision 0,001 g
- Portée 1000 g ; précision 0,01 g

32/ Une protéine est composée:

- de bases azotées
- de sucres
- d'acides aminés
- d'acides gras

33/ Un anticorps est:

- un acide nucléique
- une protéine
- un phospholipide
- un polysaccharide

34/ Que signifie QSP ?

- quantité soigneusement préparée
- quantité supérieure possible
- quantité spécialement permise
- quantité suffisante pour

35/ Un protocole que vous devez suivre vous a été donné en anglais. Que faites-vous pour appliquer l'instruction suivante "discard the supernatant and resuspend the pellet" ?

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

36/ Quelle est l'ordre de grandeur de taille des mitochondries?

- 0,1 à 1 μm
- 1 à 10 μm
- 10 à 100 μm
- 100 à 1000 μm

37/ L'expérience que vous venez de réaliser est ratée et le résultat est négatif. Consignez-vous ce résultat dans votre cahier de laboratoire ?

- non, inutile, l'expérience a échoué
- non, sauf si vous avez le temps
- oui, sans mentionner que le résultat est négatif
- oui, y compris les raisons de l'échec si vous les connaissez

38/ Parmi les réponses, quelles sont les méthodes de dosage colorimétrique des protéines

- coloration au rouge neutre
- utilisation de réactif de Bradford
- fixation de bromure d'éthidium
- méthode de Biuret

39/ Relier par un trait la technique avec la molécule étudiée

- | | | |
|--------------------|--------------------------|------------------------------------|
| Southern blot | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> ARN |
| Western blot | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> ADN |
| Northern blot | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> protéines |
| North-western blot | <input type="checkbox"/> | |

40/ Relier par un trait l'enzyme avec la technique correspondante

- | | | |
|----------------|--------------------------|--|
| Taq polymérase | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> production d'une banque d'ARN |
| ARN ligase | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> marquage d'oligonucléotide |
| kinase | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> digestion d'ADN |
| ARN polymérase | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> transcription |
| <i>Eco</i> RI | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> PCR |

Questions à réponses courtes:

1/ Pourquoi placer des échantillons au congélateur à -20°C ? (2 points)

2/ Vous disposez d'une centrifugeuse de paillasse avec un rotor à angle fixe de 24 places. Vous avez quatre tubes à centrifuger, chacun ayant une masse différente. Comment procédez-vous ? (2 points)

3/ Choix des amorces pour une PCR (2 points)

Vous voulez amplifier l'ADN compris entre les deux séquences présentées ci-dessous.

5' - GACCTGTGGAAGC - - - - - CACACGGGATTG - 3'

3' - CTGGACACCTTCG - - - - - GTATGCCCTAAC - 5'

Parmi les amorces proposées, entourer la paire qui vous permettra d'amplifier l'ADN par PCR

amorces

1) 5' - GACCTGTGGAAGC

2) 5' - CTGGACACCTTCG

3) 5' - CGAAGGTGTCCAG

4) 5' - GCTTCCACAGGTC

amorces

5) 5' - CACACGGGATTG

6) 5' - GTATGCCCTAAC

7) 5' - GTTAGGGCATAAC

8) 5' - CAATCCCCTATG

4/ Que signifient les abréviations suivantes? (3 points)

SDS-PAGE:

ADN:

kDa:

HPLC:

PCR:

Tm:

5/ Donner la traduction française des mots suivants: (3 points)

Wavelength:

Discard:

Medium:

Gloves:

Spin:

Strain:

6/ Effectuer les conversions: (2 points)

1 ng =	g
10 nm =	mm
15 pmol =	nmol
1 mg/mL =	g/L

7/ Citez au moins 4 types de composants d'un milieu permettant la culture de cellules végétales *in vitro* (2 points)

8/ Vous devez réaliser 500 mL d'une solution de tampon PBS 5X à partir d'un stock 20X (2 points)
- Quel volume de PBS 20X utilisez-vous ?

- Qu'ajoutez-vous ?

- Qu'écrivez-vous sur l'étiquette de la bouteille dans laquelle vous placez le tampon ?

9/ Identifier les pictogrammes suivants (2 points)



10/ Que consignez-vous dans un cahier de laboratoire et quelle est son utilité? (4 points)

11/ Associez dans le tableau ci-dessous les extensions .doc, .exe, .jpg, .ppt, .xls et .pdf aux types de logiciel (3 points)

extension	type de logiciel
	lecture
	traitement de texte
	image
	tableur
	application
	présentation

12/ Vous devez manipuler du phénol, de la radioactivité, des ARN. Quelles précautions prenez-vous dans chacun des cas? (6 points)

13/ Vous avez les différentes tâches (A à D) ci-dessous à effectuer durant la journée:

A- faire le bilan des résultats de la semaine précédente

B- faire migrer des protéines dans un gel de polyacrylamide (1h), fixer les protéines dans le gel (30 min), sécher le gel (2 h) et mettre en exposition contre un film autoradiographique (5 min)

C- amplifier un fragment d'ADN par PCR (mise en route de la pCR: 20 min; temps de PCR: 2h) et analyser par électrophorèse en gel d'agarose (1h de migration)

D- préparer 1 L de NaCl 5 M

Dans quel ordre réalisez-vous ces tâches? Justifier (4 points)

14/ Donner le principe et les différentes étapes de la PCR (4 points)

15/ Quelles sont les précautions à prendre quant à l'utilisation en laboratoire et à l'élimination des plantes transgéniques? (2 points)

16/ Vous devez utiliser une enzyme de restriction que vous ne connaissez pas, que faites-vous? (1 point)

17/ On vous demande de repiquer des cellules végétales en condition stérile, quelles précautions prenez-vous? (2 points)

Exercices:

Exercice 1

Préparation d'une solution d'acide chlorhydrique (7 points)

Vous devez préparer 200 mL d'acide chlorhydrique à 0,5 mol/L à partir d'une solution concentrée (solution à 37%; MM: 36,45 g/mol, d= 1,18)

Comment préparez-vous cette solution (volumes, matériel utilisé)?
Indiquez les étapes du calcul.

Quelles précautions faut-il prendre ?

Exercice 2

Préparation d'un milieu servant lors de la préparation de mitochondries (4 points)

Pour extraire et purifier des mitochondries de pomme de terre, vous devez préparer de la solution de lavage.

La composition du milieu de lavage est la suivante:

Vous disposez des stocks suivants:

- Saccharose (MM: 342,3 g/mol)	300 mM	- Saccharose	poudre
- Phosphate de potassium pH 7,2	10 mM	- Phosphate de potassium pH 7,2	1 M
- EDTA	1 mM	- EDTA	500 mM
- BSA	0,1 %	- BSA	poudre
- Glycine (MM: 75,07 g/mol)	5 mM	- Glycine	poudre

Comment préparer 500 mL de cette solution (donner masses, volumes, matériels utilisés)?

Exercice 3

Traduire les instructions suivantes en français (6 points)

Plant DNA isolation

- Grind 1-4 g of young leaves in liquid nitrogen
- Add 2.5 mL of extraction buffer and grind more
- Add extraction buffer up to 5-10 mL
- Transfer to capped tubes
- Heat at 65°C for 45 min
- Add equal volume of chloroform
- Mix gently
- Centrifuge at 4,000 rpm for 7 min
- Repeat chloroform extraction
- Add equal volume of isopropanol and mix gently
- Centrifuge at 10,000 rpm for 10 min
- Resuspend the pellet in 1 mL of water

Exercice 4

4.1) Séparation de protéine et d'ADN sur colonne de DEAE-cellulose (4 points)

Vous disposez d'un mélange contenant de l'ADN et de la protéine (pI de 5,2).

L'ADN présente un ratio d'absorbance A_{260}/A_{280} de 1,8.

La protéine présente un ratio d'absorbance A_{280}/A_{260} de 2,0.

Vous souhaitez séparer les 2 constituants sur une colonne de DEAE-cellulose (colonne échangeuse d'anions).

Après dépôt du mélange sur la colonne, vous la lavez avec 12 mL de Tris-HCl 50 mM pH 7,5 puis vous effectuez une 1^{ère} élution avec 12 mL de Tris-HCl 20 mM pH 7,5, NaCl 0,25M et une seconde élution avec 12 mL de Tris-HCl 20 mM pH 7,5, NaCl 1M. Des fractions de 2 mL sont récupérées à partir de la 1^{ère} élution et sont analysées à 260 nm et 280 nm. Les résultats sont donnés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Absorbance des fractions issues de la colonne de DEAE-cellulose

Fraction n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A_{260}	0,40	0,20	0,03	0	0	0	1,80	0,90	0,20	0	0	0
A_{280}	0,80	0,40	0,06	0	0	0	1,00	0,50	0,11	0	0	0

- Quelle est la charge électrique nette de la protéine à pH 7,5? Justifiez.

- Est-elle fixée sur la colonne de DEAE-cellulose?

- Pourquoi analyser les fractions à 260 et 280 nm?

- D'après les valeurs du tableau, quelle fraction contient le plus de protéine et quelle fraction contient le plus d'ADN ?

4.2) Quantification de la fraction contenant la protéine (10 points)

Pour évaluer la quantité et la concentration en protéine de la fraction contenant le plus de protéine, un dosage colorimétrique permettant une détection à 595 nm a été réalisé.

Les résultats obtenus pour la gamme étalon effectuée avec de la BSA de concentration connue (0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) sont donnés dans le tableau ci-dessous.

BSA en μL	20	30	40	50	60	70	80	90	100
absorbance à 595 nm	0,07	0,10	0,13	0,17	0,20	0,23	0,26	0,30	0,31

- Réaliser la droite d'étalonnage sur papier millimétré

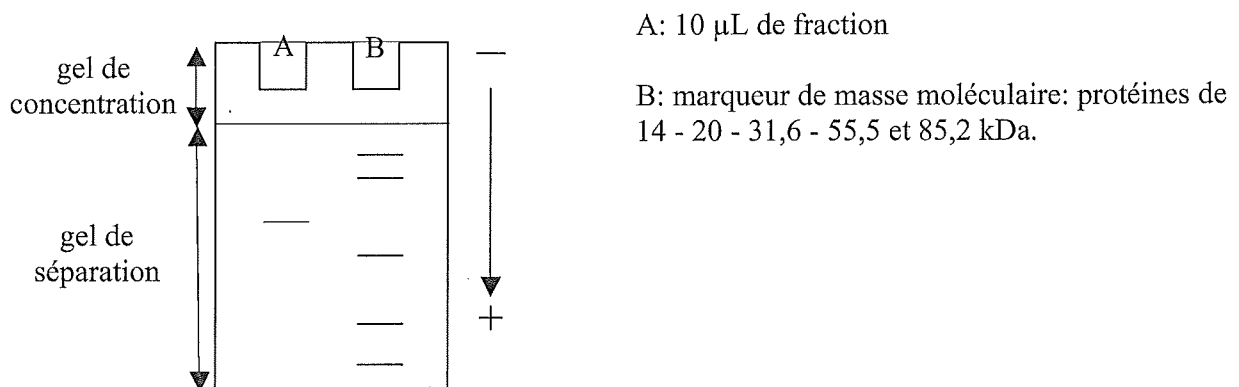
10, 20 et 40 μL de la fraction diluée au $1/10^{\text{ème}}$ ont été traités en parallèle, les absorbances à 595 nm sont respectivement de 0,11; 0,21 et 0,34

- En déduire la concentration en protéine de la fraction.

- Quelle est la quantité de protéine dans la fraction ?

4.3) Détermination de la masse moléculaire de la protéine (3 points)

La protéine a été analysée par migration en gel de polyacrylamide SDS-PAGE et coloration au bleu de Coomassie. La figure ci-dessous représente le résultat obtenu.



Déterminer la masse moléculaire approximative de la protéine, sachant que c'est un dimère.