

CONCOURS ITRF

BAP A – EXTERNE

TECHNICIEN BIOLOGISTE

Epreuves écrites

21 avril 2011

9h00 – 12h00

Amphithéâtre Onsager

Sujet en quatre parties à traiter en 3 heures

Partie 1 (5 points)

Mettez une croix devant les bonnes réponses, s'il y en a

1. Quel est le composé que l'on ne trouve jamais dans l'ADN ?
 - a. Désoxyribose
 - b. Adénine
 - c. Guanine
 - d. Cytosine
 - e. Uracile

2. La pénicilline est un antibiotique qui agit :
 - a. en bloquant la synthèse protéique
 - b. en fragilisant la membrane des lysosomes
 - c. en perturbant la lecture de l'ARNm
 - d. en altérant le mucopeptide de la paroi bactérienne
 - e. en découplant les chaînes mitochondriales de transport d'électron

3. Le pouvoir séparateur d'un microscope peut atteindre dans les meilleures conditions (montage en immersion) :
 - a. 250 μm
 - b. 25 μm
 - c. 2,5 μm
 - d. 0,25 μm
 - e. 25 nm

4. Pour préparer 1 litre de tampon TAE 0,5X à partir d'une solution 50X, vous devez :
 - a. prélever 10 ml de TAE 50X et ajouter 1 l d'eau
 - b. prélever 100 ml de TAE 50X et ajouter 900 ml d'eau
 - c. prélever 10 ml de TAE 50X et ajouter 990 ml d'eau

5. L'absorbance à 260 nm permet de mesurer l'absorbance maximale :
 - a. des protéines
 - b. des acides nucléiques
 - c. du NADH

6. Avant d'inclure un échantillon dans de la paraffine, il faut :
 - a. le fixer puis le déshydrater
 - b. le déshydrater puis le fixer
 - c. le fixer et le réhydrater

7. Avant d'éliminer une culture bactérienne à risque infectieux, vous devez :
 - a. la chauffer à 100°C

- b. la passer à l'autoclave
 - c. ajouter de l'eau de javel
8. Un western blot vous permet de mettre en évidence
- a. l'expression d'une protéine
 - b. l'expression d'un gène
 - c. la localisation d'une protéine
9. Pour prélever un volume de 100 ml :
- a. une fiole jaugée de 100 ml est plus précise qu'un bécher
 - b. un bécher est plus précis qu'une éprouvette
 - c. une éprouvette est plus précise qu'une fiole jaugée de 100 ml.
10. Lors d'une extraction d'ARN vous souhaitez éliminer l'ADN présent dans l'échantillon, vous utilisez :
- a. une DNase
 - b. une RNase
 - c. une protéase
 - d. une polymérase
11. Il est vendredi soir et vous n'avez pas eu le temps de remplir votre cahier de laboratoire sur ce que vous avez fait cette journée :
- a. tant pis ce n'était pas important
 - b. vous l'emenez chez vous pour le faire à la maison dès ce soir
 - c. vous le faites le lundi matin
 - d. vous le remplirez comme d'habitude à la fin du mois
 - e. vous le remplissez quand même ce vendredi soir
12. La levure est ?
- a. une bactérie
 - b. une plante
 - c. un champignon
 - d. un virus
 - e. un protozoaire
13. Pour stériliser une solution par filtration, quelle est la porosité des filtres à utiliser?
- a. 200 μ m
 - b. 20 μ m
 - c. 2 μ m
 - d. 0,2 μ m
 - e. 0,02 μ m
14. Sur un flacon de produit chimique liquide, il est écrit : « *causes severe burns. Avoid contact with skin and eyes. In case of contact with eyes, rinse immediately with water for at least 5min and seek medical advice* ». Vous devez peser 45g de ce produit. Quelles précautions prenez-vous?
- a. vous mettez des gants et un masque.
 - b. vous mettez des lunettes et des gants.
 - c. vous n'y touchez pas et demandez un autre produit.
 - d. vous cherchez un anglophone.

15. Quelle est , parmi les températures ci-dessous, celle qui est la plus proche de la température d'ébullition de l'azote liquide à la pression atmosphérique.
- a. -20°C
 - b. -80°C
 - c. $+20^{\circ}\text{C}$
 - d. -2000°C
 - e. -200°C

Partie 2 (7 points)

Exercice 1

Le laboratoire entretient une lignée murine transgénique pour la GFP. La souris transgénique a été créée par insertion aléatoire d'un transgène et la lignée doit être maintenue à l'état hétérozygote. Le génotypage se fait par PCR avec amplification d'un fragment de 150 paires de bases si le transgène est présent.

Questions :

1. Que signifie OGM : _____
2. Quelle stratégie de croisements murins est utilisée ? _____
3. A votre avis, quelle est la méthode d'identification des animaux ?

Exercice 2

Donner les grandes étapes de réalisation d'un Western blot (15 lignes max)

Exercice 3

Vous devez préparer 200 mL d'une solution d'HCl 0,5N à partir d'HCl concentré. Il est indiqué sur l'étiquette de la bouteille d'HCl :

- densité $d=1,18$
- pourcentage de pureté : 36,5%
- masse molaire : $36,5 \text{ g.mol}^{-1}$

De quel volume d'HCl concentré avez-vous besoin ? _____

Détaillez les calculs :

Comment préparez-vous la solution en respectant les règles sachant que vous disposez (10 lignes max)

- d'une éprouvette graduée,
- de l'eau déminéralisée,
- d'une fiole jaugée de 200 mL ?

Exercice 4

Vous devez appliquer le protocole décrit ci-dessous en anglais.

Paraffin sections

1. *After dissecting tissues, fix in 2% paraformaldehyde from 30 minutes to overnight. Larger tissue sections require longer periods of time. Section the tissues 5-10 micrometers thick.*
2. *Incubate 2-3 times in xylene for 10 minutes each.*
3. *Incubate twice in 100% Ethanol for 2 minutes each.*
4. *Incubate by placing in 95%, 70%, 50%, 30% ethanol for 2 minutes each.*
5. *Place slides in buffer for 5 minutes. Buffer: 0.25 M Tris-HCl at pH 7.5.*
6. *Place slides into buffer containing 0.5% BSA and 2% Fetal Calf Serum for five minutes.*
7. *Incubate slides in a humidified chamber overnight with primary antibody. Dilute antibody in the Tris with 3% BSA. Antibody is usually diluted from 1:20 to 1:200. Remove excess buffer from the slides, then add 50-60 microliters of antibody to the slide. The antibody should be restricted to the wet region of the slide.*
8. *Rinse slides first with a gentle stream of buffer from a squirt bottle, that flows across the sections from above.*
9. *Wash 5 minutes in buffer.*
10. *Block 5 minutes in Tris with protein.*
11. *Incubate with secondary antibody in a humidified chamber for 30 minutes or longer.*
12. *Rinse from squirt bottle and wash 5 minutes in buffer as before.*

The secondary antibody will usually be labeled with FITC or TRITC, so the slides can be mounted after this rinse. Mounting should be done in an aqueous medium.

1. Traduisez l'étape 1

2. A quoi servent les étapes 2, 4, 6 ?

Etape 2 : _____

Etape 4 : _____

Etape 6 : _____

Exercice 5

Comment préparer-vous 1 litre de solution 5X pour avoir des solutions de travail 1X dont la composition est (1X): Tris 100 mM ; NaCl 100 mM ; MgCl₂ 5mM ; SDS 0,1%.

Quels volumes des solutions stocks allez-vous utiliser ?:

Solutions stocks	Volumes prélevés
Tris 1M	_____
NaCl 5M	_____
MgCl ₂ 1M	_____
SDS 20%	_____

Exercice 6

Comprendre le protocole suivant pour répondre aux questions

Genomic DNA Extraction Protocol

1. Grind 200mg of tissue in liquid nitrogen and transfer the powder in a 1.5 mL Eppendorf tube containing 800 μ L of extraction buffer at 65°C.

Extraction Buffer

50mM Tris pH 8.0 (MW=121,14)

10mM EDTA pH 8.0 (MW= 372,24)

100mM NaCl (MW=58,44)

1% (w/v) SDS (MW=288,38)

0,1% β -mercaptoethanol (MW 78,13)

2. Add 150 μ L of 5M K-acetate, vortex and incubate on ice for 20 min. Centrifuge at 14.000 g for 10 min.

3. Transfer 750-800 μ L of supernatant to a new 1.5 mL eppendorf tube and add an equal volume of isopropanol. Mix well and immediately spin down nucleic acids by centrifugation at 14.000 g for 20 min.

4. Resuspend the pellet in 100 μ L of molecular grade H₂O

5. RNase treat for 4-5 min with 1:20 dilution RNase (10 mg/ml).

Question 1 :

Traduisez les termes suivants :

Genomic DNA extraction protocol : _____

liquid nitrogen : _____

extraction buffer : _____

incubate on ice for 20 min : _____

supernatant : _____

mix : _____

pellet : _____

Question 2 :

Comment procède-t-on à un broyage dans de l'azote liquide (1 ligne) ?

Indiquez une autre méthode de broyage de tissus congelés (1 ligne).

Pour les cellules animales un broyage n'est pas toujours nécessaire ; **quelle méthode** est alors utilisée pour faire sortir l'ADN des cellules (1 ligne)?

Question 3 :

Pour préparer l'« extraction buffer » vous devez d'abord préparer les solutions stock suivantes : 1L de Tris 1M pH8.0 ; 250ml d'EDTA 0,5M pH8.0 ; 500ml de NaCl 10M ; 250ml de SDS 20%. Indiquez les quantités de Tris, d'EDTA, de NaCl et de SDS nécessaires à la préparation de ces solutions. **Comment le pH est-il mesuré ? Quand et comment l'ajuste-t-on (deux lignes maximum)?**

Question 4 :

L'« extraction buffer » est préparé à partir des solutions stock (question 3) et d'une solution pure de β -mercaptoethanol. **Indiquez les volumes nécessaires** de chaque solution stock pour préparer 1 Litre d' « extraction buffer ».

Question 5 :

A quoi correspond la dénomination « molecular grade H_2O » ?

Question 6 :

A quoi correspondent les sigles anglais « MW » et « w/v » indiqués dans le protocole ? Traduisez-les en français.

Exercice 7

Mise en oeuvre d'une réaction de type PCR et clonage.

Vous voulez effectuer une PCR dans un volume réactionnel de 50 μL sur de l'ADN en solution à 10 $\text{ng}/\mu\text{L}$. Vous disposez d'amorces FW et R en solution à 10 μM , et d'un tube de 20 μL (soit 100 unités) d'ADN Polymerase adaptée et de son tampon concentré 10X.

Question 1 :

Que signifie le sigle PCR ? _____

Question 2 :

Que permet la PCR (1 ligne) ?

Question 3 :

Quel est le nom de l'ADN polymérase qui est utilisée en PCR et qu'est-ce qui la distingue des autres ADN polymérases ?

Question 4 :

Que signifient les sigles FW et R pour les deux amorces ? Traduisez-les en français.

Question 5 :

Sachant que vous effectuez la PCR sur 5ng d'ADN, que la concentration finale de chaque d'amorce dans le volume réactionnel doit être de 0,2 μM , et que vous utilisez 5 unités d'ADN polymérase, complétez les volumes nécessaires ci-dessous. Indiquez également quelle pipette vous utilisez pour chaque volume sachant que vous disposez d'une P2, d'une P20 et d'une P200.

	Volume	Pipette
Eau
ADN
Tampon
Amorce FW
Amorce R
ADN Polymérase

Total

Question 6 :

La PCR s'effectue en 40 cycles, composés chacun par 15s à 95°C, 30s à 60°C et 45s à 72°C. **Indiquez le nom de l'étape qui se déroule à chaque pallier de température :**

95°C

60°C

72°C

Exercice 8

Une suspension bactérienne a été diluée en série jusqu'à 10^{-8} , puis 25 μ L de cette dilution ont été étalés sur gélose. Après incubation de la gélose, on dénombre 168 colonies. **A quelle concentration était la suspension de départ (en bactéries/ml)? (détaillez votre calcul)**

Partie 3 (3 points)

Exercice 1

1 Qu'est-ce qu'une artère ? Qu'est-ce qu'une veine ?

2. Décrire les différents niveaux de contrôle hormonal du cycle ovarien.

3. Qu'est-ce qu'un cycle nycthémeral ?

4. A **quelles classes** appartiennent les animaux suivants : rat, grenouille, lapin, macaque, caille, zebrafish, lombric, couleuvre, beagle, lémurien ?

5. **Quelle est la différence entre génotype et phénotype ?** (3 lignes maximum)

Partie 4 (5 points)

Question 1

On classe habituellement les déchets en Déchets Industriels Banals et en Déchets d'Activité de Soins. Les effluents sont collectés comme DAS ou rejetés à l'égout sans ou avec autoclavage

Entourez la filière d'élimination des déchets ou effluents suivants

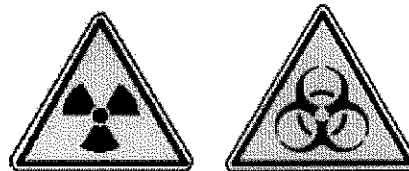
1. Aiguilles de seringues		DIB	DAS
2. Litières d'animaux génétiquement modifiés		DIB	DAS
3. Milieu de culture stérile	égout	autoclave+égout	DAS
4. Milieu de culture contaminé par OGM type 2	égout	autoclave+égout	DAS
5. Cadavres d'animaux non traités	équarrissage	DIB	DAS
6. Pipettes pasteur contaminées par OGM type 1		DIB	DAS

Question 2

Comment faut-il procéder pour manipuler en sécurité un échantillon présentant un risque biologique (bactérie de classe 2, virus, OGM, prélèvement comme le sang, culture de cellules, fragment d'organe,) ?

Comment désinfecter un Erlenmeyer ayant contenu une culture de bactéries ?

Que signifient les pictogrammes suivants :



1

2

3

4

Quelles sont les principales précautions à prendre lors de l'utilisation d'une centrifugeuse (2 lignes maximum)?

Quelles informations doivent figurer sur l'étiquette d'un réactif que vous avez préparé au laboratoire ?

Comment procédez-vous pour vérifier la précision de distribution d'une micropipette à volume variable de 100 μ l ? (2 lignes maximum)
