



**MINISTÈRE
DE L'ÉDUCATION
NATIONALE
ET DE LA JEUNESSE**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Rapport du jury

Concours: Agrégation externe

Section : Biochimie - génie biologique

Session 2023

Rapport du jury présenté par : Frédéric DUCANCEL, Directeur de recherche,
Président du jury.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	3
RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES	4
ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE	
Composition de Biochimie	
Sujet	6
Rapport de Jury	6
Composition de Microbiologie	
Sujet	8
Rapport de Jury	8
Composition de Biologie Cellulaire et Physiologie	
Sujet	11
Rapport de Jury	11
ÉPREUVES D'ADMISSION	
Travaux Pratiques de Biochimie – Physiologie	
Sujet (et dossier technique)	13
Rapport de Jury	32
Travaux Pratiques de Microbiologie	
Sujet	36
Rapport de Jury	49
Travaux Pratiques de Chimie	
Sujet	55
Rapport de Jury	70
Épreuve Orale de Leçon	
Sujets	75
Rapport de Jury	76
Épreuve Orale d'Étude Critique de Dossier scientifique et/ou technique	
Sujets	81
Rapport de Jury	85
CONCLUSION GENERALE	88

INTRODUCTION

Le jury souhaite tout d'abord féliciter les lauréats de la session 2023. Par ailleurs, les épreuves écrites, orales et pratiques du concours externe de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique ont pu se dérouler dans des conditions normales.

Les candidats admis ont su montrer leur aptitude à enseigner au plus haut niveau, mais aussi à analyser, exploiter et mettre en œuvre des résultats, des données issues de la recherche, et ce dans l'ensemble des domaines de la biologie et des biotechnologies.

Ce concours exige des candidats un socle de connaissances pointues dans tous les domaines de la biochimie, de la biologie et des biotechnologies dont les principes scientifiques doivent être maîtrisés. En conséquence, le niveau d'exigence des épreuves écrites est à l'image de l'exigence de la capacité d'adaptation à l'évolution très rapide des connaissances en biologie et en biotechnologies.

De plus, la diversité des formalismes de ce concours (compositions écrites, travaux pratiques et épreuves orales) permet d'évaluer les qualités didactiques et de synthèse des candidats, d'apprécier leurs capacités pédagogiques à structurer et expliciter des concepts scientifiques, biotechnologiques, mais aussi de juger la pertinence des modes représentatifs et outils utilisés pour étayer, démontrer et illustrer les notions et connaissances abordées.

Au cours des épreuves pratiques, l'approche expérimentale fait partie des compétences majeures attendues dans ses dimensions de calculs préliminaires en vue de la conception de protocoles, de la mise en œuvre expérimentale et de l'analyse critique des résultats expérimentaux obtenus.

Enfin les qualités pédagogiques nécessaires pour transmettre les nombreux concepts scientifiques, et expliquer l'environnement technologique et le principe des méthodes mises en œuvre expérimentalement, sont également évaluées lors des épreuves écrites, pratiques et orales.

Au cours de cette session, les candidats admissibles ont montré un engagement et une ténacité remarquables, et ce jusqu'à la fin des épreuves pratiques et orales qui ont pu se dérouler dans de très bonnes conditions.

Le jury encourage les candidats non admissibles ou non admis à se présenter à la session 2024. L'attractivité de ce concours ne se dément pas au cours des années, avec un vivier d'étudiants normaliens et universitaires formés à l'ensemble des compétences visées par le concours qui permet de maintenir un recrutement de très haut niveau.

Le jury reconnaît et apprécie également le mérite des candidats enseignants, certifiés ou contractuels qui préparent et présentent avec persévérance ce concours et se félicite de la réussite obtenue chaque année par plusieurs d'entre eux.

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Candidats inscrits	198
Candidats présents aux trois épreuves écrites d'admissibilité	56
Nombre de postes	11
Candidats admissibles	25
Candidats présents aux épreuves d'admission	22
Candidats proposés pour l'admission	11
Barre d'admissibilité (sur 20)	9,97
Barre d'admission (sur 20)	11,13

ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE

Moyenne générale des candidats présents (sur 20)	09,44
Moyenne générale des candidats admissibles (sur 20)	12,57

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	09,08
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,32
Note maximale (sur 20)	17,00

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	10,89
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	13,26
Note maximale (sur 20)	17,00

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	08,37
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,13
Note maximale (sur 20)	19,20

ÉPREUVES D'ADMISSION

Moyenne générale des candidats présents (sur 20) 10,89

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 13,12

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 11,09

Moyennes des candidats admis (sur 20) 12,69

Note maximale (sur 20) 16,00

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 10,41

Moyennes des candidats admis (sur 20) 12,43

Note maximale (sur 20) 17,00

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 09,27

Moyennes des candidats admis (sur 20) 10,98

Note maximale (sur 20) 18,50

LEÇON

Moyenne des candidats présents (sur 20) 12,24

Moyennes des candidats admis (sur 20) 14,36

Note maximale (sur 20) 19,00

ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 10,85

Moyennes des candidats admis (sur 20) 14,05

Note maximale (sur 20) 19,00

ENSEMBLE DU CONCOURS

Moyenne générale des candidats présents admissibles (sur 20) 11,48

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 13,40

ÉPREUVES ÉCRITES D'ADMISSIBILITÉ

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Les acides ribonucléiques, des acteurs clés du vivant

Après avoir présenté les caractéristiques structurales des ARNs codants et des ARN non codants, vous illustrerez à travers des exemples variés, la très grande diversité des fonctions et rôles biologiques médiés chez les Eucaryotes par les ARN.

Vous montrerez ensuite la place croissante des acides ribonucléiques en biotechnologie et biologie clinique.

RAPPORT DU JURY DE BIOCHIMIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,08 / 20**
- Meilleure note : **17,00 / 20**
- Note la plus basse : **01,30 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,32 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,15 / 20**

Après avoir présenté dans l'Introduction l'émergence et la place centrale des ARNs en biologie, un plan précis et détaillé était attendu. Le sujet posé nécessitait de traiter en première partie, les voies et lieux de synthèse (localisation subcellulaire) des différents types d'ARNs, puis de présenter les caractéristiques structurales : structures et modifications

chimiques, éléments de structuration secondaire et d'association avec d'autres entités moléculaires (ADN, protéines ...). La partie « Voies de synthèse » a été trop peu souvent traitée par les candidats, omettant ainsi d'illustrer les différentes voies de synthèse et acteurs de transcription à l'origine des différents ARNs connus.

En guise d'introduction, il était souhaitable de présenter les briques élémentaires des ARNs, les nucléotides. Une distinction entre désoxyribonucléotide et ribonucléotide était attendue, la nature du DE L, ribose, étant une des principales différences structurales entre ARN et ADN, le désoxyribose étant l'unité monosaccharidique de base de ce dernier (expliquant par ailleurs la stabilité de l'ADN par rapport aux ARNs). Une distinction entre les bases azotées retrouvées dans les molécules d'ARN et celle d'ADN était également attendue par le jury. A ce niveau de la copie les bases et nucléosides particuliers aux ARNs pouvaient être exposés. Il est à noter qu'une confusion entre nucléoside (condensation entre une base azotée et une molécule de ribose) et nucléotide (résultant de la phosphorylation d'un nucléoside) ait été relevée dans de nombreuses compositions. Enfin, une description de la liaison phosphodiester était attendue à ce niveau (à ne pas confondre avec la liaison phosphoester).

Les deux grandes familles d'ARNs : **les ARNs codants**, c'est-à-dire les ARN messagers « et uniquement les ARN messagers », puis les **ARNs non-codants** (ARNr, ARNt, miARN, siARN, snARN, circARN, lncARN et ribozymes) devaient être présentés en détails. Dans le cas des ARN messagers, il était attendu : leur origine, leur maturation *via* les pré-mARN (avec épissage alternatif ou non), leurs localisations cellulaires, la description finale de leur organisation structurale (capping, extrémité poly-A, extrémités 3' et 5' non-codantes, présence ou non d'une séquence signal, de pro-peptide...), et enfin leurs rôles. La traduction pouvait être présentée ici ou ensuite en relation avec les ARNr et ARNt. Le jury déplore que l'origine des ARNm (pré-ARNm/épissage et migration cytoplasmique) ait été omise par de nombreux candidats.

Les origines, structures, fonctions et rôles biologiques des ARNs non-codants devaient également être présentés de manière détaillée. Les aspects de régulateurs/modulateurs biologiques étaient attendus, ce qui n'a pas été le cas pour tous les candidats. La notion de Ribozyme n'est apparue que très rarement (ouverture sur un « monde ARN » et prémices aux molécules du vivant par le biais de la chimie prébiotique).

Enfin, une illustration détaillée des ARNs en tant qu'outils de recherche et de biotechnologie, mais également en tant que molécules d'intérêt clinique était attendue par le jury. C'est une partie qui dans l'ensemble, a été bien traitée. CRISPR-Cas9, le RNA seq (transcriptomique), mais aussi les approches d'hybridation ont régulièrement été mises en avant.

Concernant les applications cliniques : les vaccins ARN ont été présentés, de manière plus ou moins précise, par nombre de candidats. Le jury déplore que l'intérêt d'utiliser des ARNs interférents n'ait été que rarement présenté.

Enfin, aucun candidat n'a mentionné l'utilisation clinique des aptamères, molécules oligonucléotidiques ARN ou ADN simple brin, ayant la capacité de fixer tout un ensemble de molécules parmi lesquelles les protéines (par exemple le Macugene).

Une attention particulière a été portée à la tenue de la copie, à l'orthographe et à la syntaxe, ainsi qu'à la présence de schémas clairs et explicites.

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Les modifications du génome des organismes unicellulaires et des cellules infectées par un virus

Après avoir présenté les différents types de modification du génôme chez les organismes vivants unicellulaires et les cellules infectées par un virus, vous préciserez les circonstances qui conduisent naturellement à ces modifications.

Vous présenterez les mécanismes au niveau cellulaire et moléculaire, et l'intérêt pour l'organisme unicellulaire.

Vous illustrerez l'intérêt pour l'humain par des exemples d'application en biotechnologies.

RAPPORT DU JURY DE MICROBIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,89 / 20**
- Meilleure note : **17,00 / 20**
- Note la plus basse : **02,00 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **13,26 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **14,18 / 20**

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

En introduction, le jury attendait une définition des termes du sujet, un rappel de la problématique et l'annonce du plan qui serait suivi.

Il convenait donc de rappeler les différents types d'organismes unicellulaires (bactéries, archées, protozoaires, levures, champignons et ici, on incluait les cellules infectées par un

virus à ADN ou à ARN. Dans le devoir, il était donc important de proposer des exemples choisis dans plusieurs types d'organismes et ne pas se limiter uniquement à des exemples choisis chez les bactéries ou uniquement chez les cellules infectées par un virus. On pouvait ensuite définir la notion de génome, les différents types possibles de génomes, et enfin ce qu'est une modification du génome. Enfin, il convenait d'annoncer le plan qui était d'ailleurs proposé dans l'énoncé du sujet.

En suivant le plan proposé dans l'énoncé du sujet :

Une première partie était dédiée aux différents types de modification du génome, et les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sont à la base de ces modifications. On pouvait donc mentionner les différents types de lésions possibles sur l'ADN (dues au métabolisme cellulaire normal, dues aux erreurs de réplication de l'ADN, dues aux agressions environnementales). Il convenait de mentionner que, si ces lésions échappaient aux mécanismes de réparation (mécanismes à citer sans détailler toute leur complexité), la cellule peut entrer en apoptose ou mort cellulaire ou alors les modifications donnent naissance à des mutations. Après avoir défini le terme de mutation et rappelé qu'elles apparaissent de façon aléatoire, le jury attendait une description des différents types de mutations ponctuelles et chromosomiques. Enfin, il fallait montrer que ces mutations, si elles ne causent pas la létalité de l'organisme chez qui elles surviennent, sont alors transmises de façon verticale lors de la mitose et de la méiose (mécanismes à résumer brièvement) ou de façon horizontale, notamment chez les bactéries (mécanismes à résumer brièvement). La conclusion de ce paragraphe « mécanistique » s'imposait : les mutations sont à la base de l'évolution des organismes.

Une seconde partie pouvait ensuite développer les conséquences des modifications pour l'organisme dont le génome subit ces modifications. Le jury attendait que soient mentionnés à la fois des avantages pour l'organisme modifié et des conséquences négatives. De nombreux exemples étaient possibles. Les avantages sélectifs les plus fréquemment mentionnés ont été l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques ou de facteurs de virulence ou de sidérophores par les bactéries dont le génome est modifié par transfert horizontal. L'exemple de la modification des gènes codant pour la protéine majeure de surface de *Trypanosoma brucei* et les conséquences pour l'échappement du parasite protozoaire à la réponse immunitaire était également tout à fait approprié. Dans tous ces exemples, les modifications du génome de l'organisme unicellulaire lui permettaient de S'ADAPTER à un nouvel environnement. Parmi les conséquences néfastes de la modification du génome, on pouvait mentionner le cas d'une bactérie lysée par un phage, le cas de cellules infectées par un virus qui induit un processus de cancérisation (ex : Papilloma virus) ou qui diminue la qualité de la réponse immunitaire de l'individu (ex : VIH). D'autres exemples étaient possibles.

La troisième partie permettait de présenter quelques applications biotechnologiques de ces processus, que ce soit en santé humaine ou par exemple, dans l'environnement. Là encore, de nombreux exemples étaient possibles. Citons, pour ce qui est des applications en santé humaine, la production de vaccins ou de biomédicaments par des bactéries ou des levures dont le patrimoine génétique a été modifié, l'utilisation de phages pour traiter des infections bactériennes (phagothérapie), ou les thérapies anti-cancéreuses à base de « CAR T cells ». Concernant les applications dans l'environnement, citons la production de bactéries marines génétiquement modifiées dégradant les plastiques ou d'algues unicellulaires modifiées génétiquement pour produire des biocarburants.

Enfin, **la conclusion** permettait, après un bref rappel des notions importantes apportées par la composition, « d'ouvrir » le sujet. On pouvait par exemple mentionner les problèmes d'éthique liés à l'utilisation de ces organismes génétiquement modifiés. On pouvait aussi mentionner que, si l'expression des gènes (et donc de leurs formes modifiées) est cruciale pour l'organisme, l'expression des gènes est précisément régulée par les processus épigénétiques (qui étaient hors sujet mais qui pouvaient être mentionnés brièvement en ouverture).

COMMENTAIRES SUR L'ÉPREUVE

Les correcteurs souhaitent, une nouvelle fois, mettre l'accent sur le fait que nombre de copies (y compris de bonnes copies !) étaient truffées de fautes de syntaxe, de grammaire, d'orthographe et de ponctuation et que certaines copies présentaient une écriture tout simplement illisible. Il est inconcevable qu'un(e) enseignant(e) ne s'applique à lui/elle-même, la rigueur qui est demandée à ses étudiant(e)s. Les correcteurs ont par contre été favorablement impressionnés par les efforts des candidats pour structurer leur devoir en paragraphes précédés d'un titre informatif. Ils ont également apprécié les schémas variés, légendés et munis d'un titre qui venaient étayer les argumentations. L'utilisation de couleurs à la fois pour les schémas et les titres facilite toujours la lecture et est également appréciée. De nombreux candidats n'ont cependant pas pensé à mentionner dans leur texte, à quel moment ces schémas ou tableaux devaient être observés : il est impératif de mentionner dans le texte du devoir, **AU MOMENT OU** le correcteur doit regarder un schéma ou un tableau, le numéro du schéma ou de la figure.

Remarques :

- les mots d'origine latine doivent être employés au singulier/pluriel selon les besoins de la phrase (UN pilus : singulier, DES pili : pluriel) ;
- la sonication des bactéries ne permet pas de transformer des bactéries, elle les tue !
- les plasmides font bien partie du génome bactérien ;
- l'ADN et l'ARN sont constitués de (ribo)nucléotides, pas seulement de bases nucléotidiques !
- la machine de réplication de l'ADN chez les bactéries possède bien l'activité d'exonucléase 3'→5' (de relecture)

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Les glandes surrénales, des glandes endocrines aux fonctions régulatrices variées

Après avoir décrit les glandes surrénales, vous présenterez leurs fonctions endocrines en précisant les différents types cellulaires impliqués, les différentes hormones produites ainsi que leurs actions spécifiques sur les organes et cellules cibles.

Vous présenterez ensuite la régulation de la production des différents types d'hormones surrénaliennes.

Vous décrirez enfin quelques applications thérapeutiques associées aux modulations d'activité de ces hormones

RAPPORT DU JURY DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **08,37 / 20**
- Meilleure note : **19,20 / 20**
- Note la plus basse : **00,50 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,13 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **14,56 / 20**

La communication hormonale est au centre de l'homéostasie des organismes. Cette communication implique la production et la sécrétion de molécules de diverses natures qui seront déversées dans le sang et agiront sur les cellules cibles équipées des récepteurs spécifiques à ces hormones. Dans ce système, les glandes surrénales produisent un certain nombre d'hormones impliquées dans la régulation de paramètres physiologiques tels que la glycémie ou la volémie.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

Le sujet nécessitait de décrire de façon générale le système de communication endocrine, les différents types d'hormones, le transport des hormones, la spécificité d'action *via* les récepteurs et éventuellement les types de récepteurs et les voies de signalisation impliquées. Une description moléculaire de ces voies était requise avec notamment les différents types de récepteurs impliqués et leurs modes de signalisation et actions.

La composition devait inclure une description précise et détaillée des zones et types cellulaires producteurs des différentes hormones (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et catécholamines), les modes de synthèses de ces hormones (substrats nécessaires, enzymes impliquées), la régulation de la sécrétion de ces hormones (axe corticotrope, système rénine angiotensine, innervation nerveuse des surrénales), les cellules cibles de ces hormones, les actions de ces hormones sur les grandes fonctions physiologiques et les métabolismes impliqués (métabolisme glucidique, lipidique, protéique, volémie et rétention sodique). Leurs actions sur les organes spécifiques et les spécificités, ainsi que les notions de régulation en fonction du stress, les actions sur le système immunitaire étaient attendus. Une attention particulière était donnée sur le plan de la composition, les illustrations et schémas des connaissances présentées.

Enfin, les aspects physiopathologies et applications thérapeutiques étaient attendus en prenant des exemples selon les types d'hormones concernées, par exemple le syndrome de Cushing ou l'action anti-inflammatoire des hormones glucocorticoïdes.

COMMENTAIRES SUR L'ÉPREUVE

Le jury rappelle que, quelle que soit leur qualité, les concepts et notions hors-sujet ne sont pas valorisés dans la notation de la copie, il est donc primordial de bien cerner le sujet avant de rédiger. Trop peu de devoirs prennent le temps de bien définir les termes du sujet dans l'introduction et ainsi justifier leur choix de développement et d'articulation entre les différentes parties.

Dans le cadre de ce sujet, il fallait traiter les aspects cellulaires et physiologiques mais aussi les aspects moléculaires impliqués dans la production et l'action des hormones surrénaliennes. A chaque fois que cela est possible, une approche expérimentale, voire historique, des concepts et notions est préférable à leur exposition dogmatique. Cette approche a été valorisée dans le barème de notation.

La conclusion du devoir n'est pas non plus à négliger, au-delà d'une synthèse des concepts clefs développés dans le sujet, il est important d'offrir une perspective pertinente en ouverture.

Sur la forme, un plan apparent, construit à partir de parties titrées et numérotées, est attendu. Les schémas sont indispensables et doivent être mis au service de la démarche explicative et argumentative ; illustrer sa copie par des schémas hors sujet n'est pas valorisé dans la notation et conduit souvent à un effet de dilution des notions.

L'orthographe, la syntaxe et la qualité de l'expression sont prises en compte dans la notation de la copie.

Plusieurs très bonnes copies, bien construites, argumentées et illustrées ont été appréciées par le jury. A l'inverse, de nombreuses copies témoignent de connaissances parcellaires en biologie cellulaire et physiologie ou d'une faible compréhension de mécanismes clefs.

ÉPREUVES D'ADMISSION

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

CARACTERISATION D'UNE UBIQUITINYLATION DE LA PROTEINE PB2 DU VIRUS INFLUENZA A

INTRODUCTION

Les virus influenza de type A, B, et C sont les agents étiologiques de la grippe. Parmi les virus de type A, les virus de sous-types H1N1 et H3N2 sont responsables d'épidémies de grippe saisonnières, et causent de 250 000 à 500 000 décès par an dans le monde. D'autres virus influenza A représentent un risque d'émergence virale zoonotique, comme l'a démontré la pandémie de 2009 provoquée par un virus H1N1 d'origine porcine. Les virus influenza A représentent donc sous différents aspects un problème de santé publique à l'échelle mondiale.

Les virus influenza sont des virus enveloppés à ARN négatif comportant huit segments, codant au moins douze protéines virales, dont trois composent la polymérase : PA, PB1 et PB2. La polymérase assure la transcription et la réplication des segments d'ARN viraux dans le noyau des cellules infectées, et est à ce titre un élément essentiel du cycle viral. Le succès de l'infection implique une régulation fine des multiples fonctions des protéines virales, qui repose souvent sur des modifications post-traductionnelles (PTM). Dans cette étude nous nous intéresserons à l'une de ces modifications : l'ubiquitylation. En effet certaines protéines virales, dont PB2, sont connues pour interagir avec le système ubiquitine de la cellule et pour être elles-mêmes ubiquitylées.

Le système ubiquitine-protéasome est un élément majeur de l'homéostasie cellulaire connu depuis longtemps pour contrôler la dégradation des protéines. Cependant, l'ubiquitylation est également impliquée dans la localisation subcellulaire, l'activation et les interactions des protéines. L'ubiquitylation se déroule en trois étapes caractérisées par le transfert en série de la molécule d'ubiquitine à différentes enzymes. Dans un premier temps, l'ubiquitine est activée par une enzyme activatrice E1 puis transférée à une enzyme de conjugaison E2 avant d'être finalement liée au substrat protéique grâce à une E3 ligase. Les E3 ligases interagissent souvent avec d'autres protéines pour former un complexe qui permet l'ubiquitylation du substrat. Un criblage des interactions entre l'ensemble des protéines du système ubiquitine protéasome et la protéine virale PB2 a mis en évidence une interaction entre PB2 et un complexe E3 ligase composé de Cul4, DDB1 et DCAF12L1. Durant ce TP vous chercherez à confirmer l'interaction entre la protéine virale PB2 et les protéines DDB1 et DCAF12L1. Ensuite vous déterminerez le site de PB2 ubiquitylé par DCAF12L1, puis l'impact sur la stabilité de PB2 et l'infectiosité du virus.

CONSIGNES GENERALES

Tous les résultats seront indiqués ou joints à la copie avec référencement.

Les fichiers informatiques réalisés pour traiter les données seront enregistrés dans le dossier candidat.

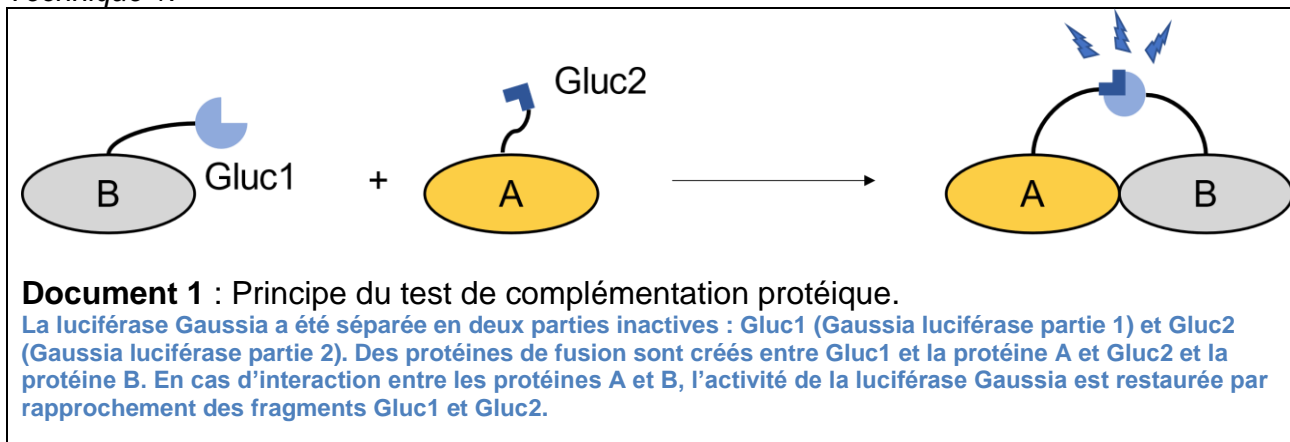
Par ailleurs, pour chaque série de calculs, il faudra systématiquement présenter les équations aux grandeurs et aux unités ainsi qu'un exemple d'équation aux valeurs numériques.

La mise en œuvre de la prévention des risques sera évaluée dans l'ensemble des manipulations.

PARTIE 1 : MISE EN EVIDENCE DE L'INTERACTION ENTRE PB2 ET LES PROTEINES DDB1 ET DCAF12L1

Afin de confirmer l'interaction entre PB2 et les protéines DDB1 et DCAF12L1 un test de complémentation protéique par double hybride est réalisé. Le document 1 présente le principe de cette méthode. Comme il est connu que PA, une autre protéine du complexe polymérase virale, est également ubiquitinylée, l'interaction entre PA et les protéines DDB1 et DCAF12L1 a également été testée. Les différentes constructions et les combinaisons testées sont présentées dans la *Fiche Technique 2*.

Ces constructions sont clonées dans des vecteurs d'expression plasmidique présentés dans la *Fiche Technique 1*.



1. Partie 1.1 : Vérification des plasmides par digestion enzymatique

Avant de réaliser le test de complémentation protéique, un contrôle de la conformité de quatre des plasmides utilisés est réalisé : intégrité structurale, identité et conformité des séquences attendues.

La *Fiche Technique 1* présente le protocole de la digestion enzymatique à mettre en œuvre.

Le logiciel Serial Cloner® est à disposition sur l'ordinateur et un tutoriel est disponible dans le dossier candidat.

- Q1. À partir des cartes génétiques et des enzymes de restriction disponibles, et à l'aide du logiciel Serial Cloner®, proposer les digestions à réaliser de manière à confirmer l'identité de chaque plasmide et la conformité de leur structure. Indiquer les profils attendus.**
- Q2. Présenter et justifier la composition détaillée d'un milieu réactionnel de digestion et d'un gel d'agarose à 1% contenant du GelRed.**
- Q3. Après avoir rappelé la conformation naturelle d'un plasmide, analyser les résultats obtenus et conclure.**

2. Partie 1.2 : test de complémentation protéique

Des cellules HEK-293T ont été transfectées avec 50 ng de plasmide codant Gluc1-B et 50 ng de plasmide codant Gluc2-A selon les combinaisons présentées dans la *Fiche Technique 2*. De plus 5 ng de plasmide codant une luciférase Firefly ont été ajoutés dans chaque puits.

La *Fiche Technique 2* présente le protocole de ce test de complémentation protéique.

- Q4. Expliquer comment il est possible de déterminer successivement l'activité de deux luciférases.**
- Q5. A l'aide d'une représentation judicieusement choisie, indiquer le rôle de chaque condition testée et proposer une méthode de calcul permettant de déterminer s'il existe une interaction entre deux protéines et de la quantifier.**
- Q6. Indiquer le rôle de la transfection dans tous les puits par le plasmide permettant l'expression de la luciférase Firefly.**
- Q7. Analyser les résultats et conclure.**

PARTIE 2 : DETERMINATION DES RESIDUS UBIQUITINYLES DE PB2

Deux lysines localisées dans la partie C-terminale de la protéine PB2 ont été identifiées comme résidus potentiellement ubiquitylés par DCAF12L1 : K126 et K482. Afin de valider cette hypothèse, deux mutants de PB2 ont été générés par substitution de ces lysines par une arginine.

- Q8. Dégager l'intérêt de remplacer les lysines spécifiquement par des arginines.**

L'objectif est d'étudier l'impact des mutations K126R et K482R sur l'ubiquitylation de PB2 grâce à une immuno-détection sur membrane par un dot blot.

Pour ce faire, des cellules HEK-293T ont été transfectées avec les plasmides :

- Flag-PB2 WT, Flag-PB2 K126R ou Flag-PB2 K482R : plasmides d'expression des protéines de fusion PB2 sauvage ou mutantes (K126R ou K482R) fusionnées à une étiquette Flag.
- Strep-DCAF12L1 : plasmide d'expression de DCAF12L1 fusionnées à une étiquette Strep.
- His-Ubiquitine : plasmide d'expression de l'ubiquitine fusionnées à une étiquette 6 Histidines.

Quarante-huit heures post-transfection, les lysats cellulaires ont été soumis à une immunoprécipitation à l'aide d'anticorps anti-Flag. Les extraits protéiques correspondants vous sont fournis : WT, K126R, K482R (*Fiche Technique 3*).

L'ubiquitylation des différentes protéines PB2 immuno-précipitées est révélée par un immuno-marquage anti-His. Afin de normaliser le dépôt des échantillons, un dosage des extraits protéiques est réalisé en préalable au dot blot.

3. Partie 2.1 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford

La *Fiche Technique 3* présente un protocole de dosage des protéines par la méthode de Bradford.

Q9. Présenter sous une forme appropriée la gamme à réaliser et la préparation des échantillons.

Q10. Exploiter les résultats.

4. Partie 2.2 : Immuno-détection sur membrane : dot blot

La *Fiche Technique 4* présente un protocole d'immuno-détection sur membrane par dot blot.

Q11. Expliquer l'importance de l'immuno-précipitation préalable au dot blot.

Q12. Réaliser un schéma du principe de l'immuno-détection mise en œuvre.

Q13. Justifier le volume déposé pour chaque dépôt d'extrait protéique.

Q14. Proposer un contrôle indispensable à la validation de la révélation. Justifier sa composition.

Q15. Analyser les résultats et conclure.

PARTIE 3 : EFFET DE L'UBIQUITINYLATION SUR LA STABILITE DE PB2

L'ubiquitylation des protéines ayant été décrite pour son rôle de signalisation dégradative, l'objectif de cette partie est de déterminer l'impact de l'ubiquitylation sur la stabilité de PB2. Pour ce faire, des cellules HEK-293T ont été co-transfectées avec les plasmides décrits en partie 2 : Flag-PB2 et Strep-DCAF12L1 ou Strep-*vide* (plasmide d'expression de l'étiquette Strep seule). Les protéines de fusion exprimées font 86 kDa pour Flag-PB2 et 30 kDa pour Strep-DCAF12L1.

Après 36 heures de culture, un traitement avec du MG132, un inhibiteur du protéasome, est réalisé, ou non, pendant 4 heures. Les cellules sont ensuite lysées. Les 4 extraits protéiques correspondants vous sont fournis : PB2+DCAF/MG132, PB2+DCAF, PB2/MG132 et PB2. L'analyse des protéines surexprimées est réalisée en SDS-PAGE.

La *Fiche Technique 5* présente un protocole de SDS-PAGE.

Q16. Expliquer le principe et le rôle de la dénaturation des protéines dans les conditions de cette électrophorèse.

Q17. Réaliser un schéma synthétique du gel d'électrophorèse obtenu.

Q18. Exploiter les résultats de l'électrophorèse et conclure.

PARTIE 4 : IMPORTANCE POUR LE CYCLE VIRAL

Afin de déterminer l'importance de l'ubiquitylation de PB2 pour le cycle viral, la production virale a été suivie dans des cellules pulmonaires A549 infectées avec le virus sauvage ou le virus muté sur le résidu ubiquitylé de PB2. Les cellules ont été infectées à une multiplicité d'infection (MOI) de 10^{-3} virus / cellule et le surnageant collecté à 24 et 48 heures post-infection. La quantité de particules virales infectieuses dans le surnageant a ensuite été quantifiée par la technique des plages de lyse. Pour ce faire un tapis cellulaire confluent est infecté avec 400 μ L de dilutions décimales en série de surnageant puis recouvert d'un milieu semi-solide pour limiter la diffusion des virions produits. Après quelques jours le milieu est retiré et le tapis cellulaire coloré au crystal violet.

Des photographies des plaques après coloration sont présentées dans le dossier candidat sur l'ordinateur.

Q19. Déterminer le titre de la suspension virale en UFP/mL (Unité Formant Plage/mL) pour chaque condition.

Q20. Représenter l'évolution du titre viral en fonction du temps pour les deux virus étudiés.

Q21. Analyser et conclure

PARTIE 5 : BILAN DE L'ETUDE

Q22. Résumer l'ensemble des résultats obtenus.

- Q23. Conclure sur un effet proviral ou anti-viral de l'ubiquitinylation de PB2 par DCAF12L1.**
- Q24. Proposer une hypothèse qui pourrait expliquer l'effet observé.**

Référence : Karim, M. *et al.* Nonproteolytic K29-Linked Ubiquitinylation of the PB2 Replication Protein of Influenza A Viruses by Proviral Cullin 4-Based E3 Ligases. *mBio* 11 (2020).

DOSSIER TECHNIQUE

Le dossier technique est distribué à côté du sujet.

ANNEXE 1

DONNÉES DE SÉCURITÉ

Cellules HEK-293T

Conseil de prudence : porter des gants de protection, éliminer les déchets dans la poubelle DASRI.

Réactif de Bradford



Attention

H315 Provoque une irritation cutanée.
H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

Tampon échantillon SB



Danger

H302 Nocif en cas d'ingestion.
H311 Toxique par contact cutané.
H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
H411 Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Gel de polyacrylamide pré-coulé

Pas de mention de danger ou d'avertissement

Conseil de prudence : porter des gants de protection et des lunettes de sécurité.

FICHE TECHNIQUE 1**VERIFICATION DE LA CONFORMITE DES PLASMIDES
UTILISES PAR DIGESTIONS ENZYMATIQUES**

Le contrôle de la conformité des constructions utilisées lors de la transfection des cellules est réalisé par mise en œuvre d'une plasmidotypie à partir de la réalisation d'un profil de restriction.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Gluc1-DCAF	Plasmide permettant l'expression de la protéine DCAF12L1 fusionnée à la partie 1 de la luciférase Gaussia à 100 ng/μL	10 μL
Gluc1-DDB1	Plasmide permettant l'expression de la protéine DDB1 fusionnée à la partie 1 de la luciférase Gaussia à 100 ng/μL	10 μL
Gluc2-PB2	Plasmide permettant l'expression de la protéine PB2 fusionnée à la partie 2 de la luciférase Gaussia à 100 ng/μL	10 μL
Gluc2-PA	Plasmide permettant l'expression de la protéine PA fusionnée à la partie 2 de la luciférase Gaussia à 100 ng/μL	10 μL
BamHI	Enzyme de restriction BamHI à 1 U/μL	15 μL
HindIII	Enzyme de restriction HindIII à 1 U/μL	15 μL
BgIII	Enzyme de restriction BgIII à 1 U/μL	15 μL
BbsI	Enzyme de restriction BbsI à 1 U/μL	15 μL
Tampon G	Tampon 10X de l'enzyme de restriction BbsI	10 μL
Tampon E	Tampon 10X des enzymes de restriction BamHI et HindIII	10 μL
Tampon D	Tampon 10X de l'enzyme de restriction BgIII	10 μL
M 100pb	Marqueur de taille 100 pb	15 μL
M 1kb	Marqueur de taille 1000 pb	15 μL
Eau BM	Eau de qualité biologie moléculaire (ultra-pure)	1 mL
LD	Tampon de charge 6X (Loading Dye) : Saccharose 40% + Bleu de Bromophénol 0,25%	50 μL
Agarose	En poudre	Paillasse cuve électrophorèse
GelRed	Solution à 10000X pour la mise en évidence optimale de 20 à 100 ng d'ADN.	A demander
TAE	Tris Acétate EDTA 1X	1 flacon de 2 L collectif par laboratoire

- 1 ordinateur avec le logiciel Serial Cloner® et les séquences des différents plasmides

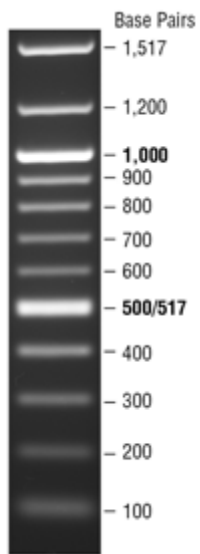
- 1 cuve d'électrophorèse complète, avec portoir et peigne 15 puits.
- 1 générateur
- 1 bain à sec à 37°C
- Imageur UV
- 1 flacon conique avec bouchon en mousse
- 1 éprouvette graduée de 100 mL
- Microtubes de 1,5 mL stériles
- Mini-centrifugeuse de paillasse
- Rouleau de scotch de peinture (paillasse électrophorèse)
- Fond noir (paillasse électrophorèse)
- Four micro-onde (dans le sas)
- Plan de dépôt papier

MODE OPÉRATOIRE

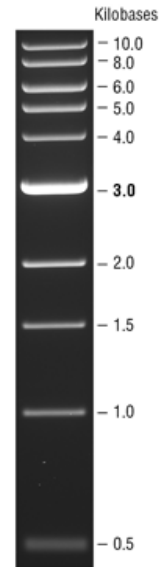
1. Réaliser les milieux réactionnels de digestion nécessaires à la vérification de la conformité des plasmides utilisés dans des microtubes de 1,5 mL stériles. On souhaite digérer 300 ng de plasmide par 2 U d'enzyme de restriction dans un volume final de 10 μ L.
2. Incuber à 37°C en bain marie à sec pendant 1h.
3. Ajouter le volume adéquat de tampon de charge (LD) à chaque tube avant de déposer sur gel.
4. Préparer le portoir de coulage du gel en fermant les extrémités ouvertes à l'aide de scotch de peinture.
5. Préparer 35 mL de gel d'agarose à 1% en TAE 1X (m/V) dans un flacon conique avec bouchon en mousse (la pesée de l'agarose peut être réalisée directement dans le flacon). **Appeler l'examineur pour la pesée.**
6. Faire fondre la préparation au micro-onde (trois ébullitions).
7. Après refroidissement (mais avant solidification) **appeler l'examineur** : ajouter le volume nécessaire de GelRed, homogénéiser puis couler dans le portoir de gel. Placer un peigne.
8. Après solidification du gel retirer les bandes de scotch, déposer le gel et son portoir dans la cuve d'électrophorèse, retirer délicatement le peigne, et remplir les réservoirs de la cuve avec du TAE 1X jusqu'à ce que le niveau de liquide recouvre le gel de quelques millimètres.
9. Compléter le plan de dépôt et déposer la totalité des échantillons préparés et 10 μ L de marqueur(s) de taille **en présence de l'examineur.**
10. Brancher la cuve au générateur et démarrer la migration à 100 V.
11. A la fin de la migration, **appeler l'examineur pour prendre une photographie** à l'aide de l'imageur UV.

DONNÉES

Marqueur de taille 100 pb (M 100pb)



Marqueur de taille 1000 pb (M 1 kb)



Les cellules HEK-293T sont des cellules épithéliales de rein humain. Elles ont été cultivées à 37°C et 5% de CO₂, en milieu DMEM supplémenté avec 10% de SVF. Des plaques 96 puits ont été ensemencées avec 2,5.10⁴ cellules HEK-293T par puits dans 100 µL de milieu et ces cellules ont été transfectées après 24h pour un volume final de 150 µL avec 100 ng de chaque plasmide et 1 µg de polyéthylèneimine (PEI). Le tableau 1 présente les conditions de transfection.

Tableau 1 : Plan de transfection des cellules.

Par exemple :

- Les cellules du puits C2 ont été co-transfectées par les vecteurs Gluc2-PB2, Gluc1-DACF12L1 et Firefly.
- Les cellules du puits E1 ont été co-transfectées par les vecteurs Gluc2-vidé et Firefly. Le vecteur Gluc2-vidé correspond au vecteur codant la partie 2 de la luciférase Gaussia non fusionnée.

	1	2
A	Firefly	Gluc2-PB2 Firefly
B	Gluc1-vidé Firefly	Gluc2-PB2 Gluc1-vidé Firefly
C	Gluc1-DCAF12L1 Firefly	Gluc2-PB2 Gluc1-DCAF12L1 Firefly
D	Gluc1-DDB1 Firefly	Gluc2-PB2 Gluc1-DDB1 Firefly
E	Gluc2-vidé Firefly	Gluc2-PA Firefly
F	Gluc2-vidé Gluc1-vidé Firefly	Gluc2-PA Gluc1-vidé Firefly
G	Gluc2-vidé Gluc1-DCAF12L1 Firefly	Gluc2-PA Gluc1-DCAF12L1 Firefly
H	Gluc2-vidé Gluc1-DDB1 Firefly	Gluc2-PA Gluc1-DDB1 Firefly

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PBS	Tampon phosphate	15 mL
Réactif Firefly	Tampon de lyse + substrat de la luciférase Firefly	850 µL
Réactif Gaussia	Réactif d'arrêt de la luciférase Firefly + substrat de la luciférase Gaussia	850 µL

- Plaque 96 puits, avec des cellules HEK-293T transfectées selon le plan présenté dans le tableau 1
- 1 barrette 16 puits noirs (2 colonnes de 8 puits) pour luminomètre sur support
- 1 luminomètre

MODE OPÉRATOIRE

1. Eliminer délicatement le surnageant dans chacun des puits.
2. Réaliser un lavage **très délicat** des tapis cellulaires avec 75 µL de PBS.
3. Eliminer le PBS.
4. Ajouter 50 µL du réactif Firefly. Homogénéiser.
5. Attendre 10 min à température ambiante.
6. Transférer le lysat cellulaire dans les barrettes noires pour luminomètre en respectant le plan de plaque du tableau 1.
7. **Appeler l'examineur pour la lecture au luminomètre.**
8. Ajouter 50 µL du réactif Gaussia. Homogénéiser.
9. Attendre 10 min à température ambiante.
10. **Appeler l'examineur pour la lecture au luminomètre.**

Les échantillons immuno-précipités ont une concentration comprise entre 1,0 et 2,0 mg.mL⁻¹.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
WT	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
K126R	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 mutée K126R fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
K482R	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 mutée K482R fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
SAB	Solution étalon de Sérum albumine bovine diluée à 1 g.L ⁻¹	1 mL
Eau physiologique	NaCl 0,9%	30 mL
Réactif de Bradford	Solution de bleu de Coomassie	Distributeur 1 mL

- Spectrophotomètre
- Chronomètre
- Microcuves visibles (notées « Semi-visible »)
- Parafilm
- Vortex
- Microtubes de 1,5 mL stériles

MODE OPÉRATOIRE

1. Réaliser une gamme de SAB allant de 0 à 0,1 mg.mL⁻¹, en eau physiologique et dans un volume final de 100 µL.
2. Prévoir les dilutions des échantillons WT, K126R et K482R.
3. Ajouter 1 mL de réactif de Bradford dans toutes les microcuves. Homogénéiser et incubé entre 10 et 30 minutes.
4. Lire l'absorbance à 595 nm contre un blanc réactif. **Appeler l'examineur pour la lecture au spectrophotomètre**

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
WT	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
K126R	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 mutée K126R fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
K482R	Immuno-précipité obtenu suite à la co-transfection des plasmides codant pour la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep, la protéine ubiquitine fusionnée à l'étiquette 6 Histidines et la protéine PB2 mutée K482R fusionnée à l'étiquette Flag	50 µL
Eau Physiologique	NaCl 0,9%	30 mL
TBST	Tris-HCl pH 7,5 50mM, NaCl 150 mM, Tween 20 à 0,05%	10 mL
TBST-Lait	TBST, lait écrémé à 4%	10 mL
TBS	Tris-HCl pH 7,5 50mM, NaCl 150 mM,	15 mL
Ac anti-His HRP contrôle	Anticorps anti-His conjugué à la peroxydase HRP dilué au 1/1000 dans du TBST	5 µL
Ac anti-His HRP	Anticorps anti-His conjugué à la peroxydase HRP dilué au 1/4000 dans du TBST-Lait	1,5 mL
H ₂ O ₂	H ₂ O ₂ 30%	50 µL
Chloro-naphtol	4-Chloro-1-naphtol, 5 mg/mL en éthanol absolu	0,5 mL

- 1 petite boîte de Pétri contenant une membrane carrée de nitrocellulose pour l'immuno-détection
- 1 fiole Coulter
- Aluminium
- Plaque d'agitation
- Tube conique de 15 mL

MODE OPÉRATOIRE

1. Déposer sur la membrane de nitrocellulose 3 spots distants correspondant respectivement à 4 µg de protéines d'immuno-précipité WT, K126R ou K482R ainsi qu'un spot de contrôle de validation de la révélation. Laisser sécher 10 minutes.
2. Introduire la membrane au fond de la fiole Coulter et réaliser les opérations 3 à 7 directement dans la fiole Coulter.
3. Déposer 1 mL de TBST-Lait sur la membrane. Fermer la fiole et incuber sous agitation 5 minutes à température ambiante.
4. Déposer sur la membrane 1 mL de solution d'Anticorps anti-His conjugué à la peroxydase HRP dilué au 1/4000 (Ac Anti-His HRP). Fermer la fiole et incuber sous agitation 30 minutes à température ambiante.
5. Réaliser un lavage rapide en TBS.
6. Réaliser un lavage en TBST : déposer sur la membrane 1 mL de TBST, fermer la fiole et incuber sous agitation 10 minutes à température ambiante.
7. Réaliser un lavage rapide en TBS.
8. Préparer extemporanément 5 mL de réactif de révélation « *HRP Reveal* ». La composition standard pour 50 mL de réactif est de 5 mL de Chloro-naphtol additionné de 25 µL de H₂O₂, en tampon TBS.
9. Introduire la membrane dans une petite boîte de Pétri et révéler sans agitation à l'obscurité avec 5 mL de réactif de révélation « *HRP Reveal* ».
10. Après 15 minutes, arrêter la coloration de la membrane par rinçage à l'eau. La sécher sur papier filtre.
11. Coller la membrane dans le rapport et l'annoter.

Appeler l'examineur.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PB2+DCAF/MG132	Lysat de la culture avec MG132 des cellules HEK-293T suite à la co-transfection des plasmides codants pour la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep et la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	15 µL
PB2+DCAF	Lysat de la culture sans MG132 des cellules HEK-293T suite à la co-transfection des plasmides codants pour la protéine DCAF12L1 fusionnée à l'étiquette Strep et la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	15 µL
PB2/MG132	Lysat de la culture avec MG132 des cellules HEK-293T suite à la transfection du plasmide codant pour la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	15 µL
PB2	Lysat de la culture sans MG132 des cellules HEK-293T suite à la transfection du plasmide codant pour la protéine PB2 sauvage fusionnée à l'étiquette Flag	15 µL
SB	Tampon échantillon 2X : Tris 0,063 mol·L ⁻¹ ; glycérol 25 % ; SDS 2 % ; BBP (bleu de bromophénol) 0,01 % ; 2-mercaptoéthanol 5 %	180 µL
RB	Tampon de migration 1X : Tris-HCl 25 mM ; Glycine 192 mM ; SDS 0,1 %	5 mL
M Prot	Marqueur de taille : mélange de protéines recombinantes en tampon échantillon prêt à l'emploi « Unstained Precision Plus Protein Standard » (Bio-Rad)	15 µL
<i>Rapid-Blue</i>	Solution aqueuse de bleu de Coomassie modifiée	2 flacons par salle

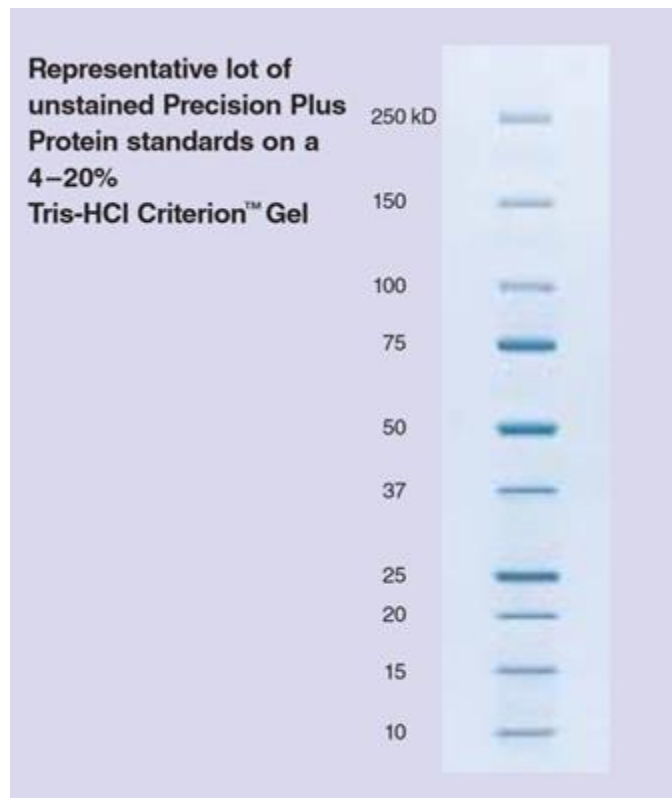
- Bain à sec à 100°C
- Gel de polyacrylamide à 12% sur support
- Cuve d'électrophorèse verticale Bio-Rad
- Générateur
- Boite en plastique pour la révélation
- Flacon de récupération du *Rapid-Blue*
- Spatule en plastique verte pour démouler les gels (à demander)

MODE OPÉRATOIRE

1. Préparer les 4 échantillons judicieusement choisis contenant :
 - 10 µL de lysat ;
 - 10 µL de tampon échantillon SB 2X (à bien homogénéiser avant utilisation).
2. Incuber les échantillons 10 minutes à 100 °C.
3. **Demander un gel précoulé à l'examineur.** Enlever le peigne, remplir les puits avec du tampon RB 1X sans faire de bulles.
4. Déposer à votre place :
 - 10 µL de marqueur de taille (M Prot) ;
 - 10 µL de chacun des 4 échantillons préparés.
5. Lorsque le gel est prêt, **appeler l'examineur qui s'occupera de la migration** (140 V pendant 45 minutes environ).
6. Démouler le gel et le déposer dans une boîte en plastique. Le rincer quelques minutes avec de l'eau déminéralisée.
7. Eliminer l'eau déminéralisée à l'évier puis recouvrir le gel avec 15 à 20 mL de colorant *Rapid-Blue*. Incuber 15 minutes.
8. Récupérer le *Rapid-blue* dans le flacon de récupération.
9. Rincer le gel à l'eau déminéralisée. Réaliser trois lavages de 5 minutes.
10. Laisser le gel en eau dans la boîte et indiquer le numéro le candidat sur la boîte. **Appeler l'examineur.**

DONNÉES

Marqueur de taille (M Prot) « *Unstained Precision Plus Protein Standard* »

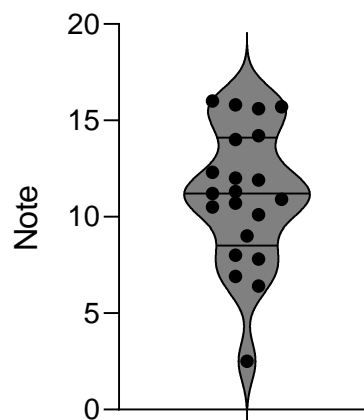
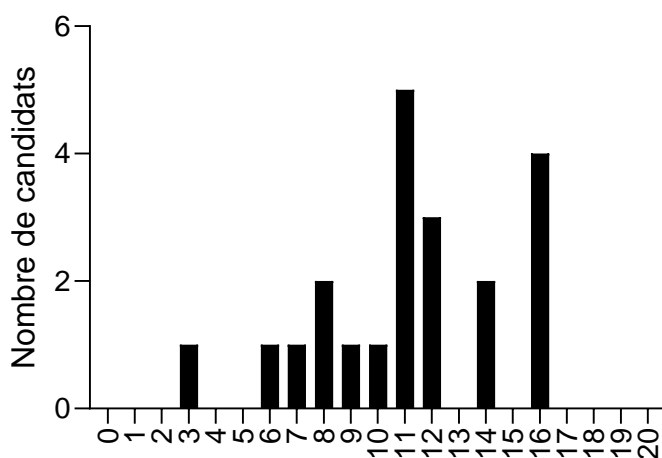


RAPPORT DU JURY DE TP DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,09 / 20**
- Meilleure note : **16,00 / 20**
- Note la plus basse : **02,50 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **71,4 %**
- Moyenne des candidats admis : **12,69 / 20**

Dispersion et Histogramme de répartition :



COMMENTAIRES GÉNÉRAUX SUR L'ÉPREUVE

Le sujet portait sur la caractérisation de l'ubiquitylation de la sous-unité PB2 de l'ARN polymérase du virus Influenza A. Le sujet proposait d'étudier cette ubiquitylation depuis sa caractérisation moléculaire jusqu'à son impact sur l'efficacité du cycle viral.

Le sujet proposait des manipulations variées et classiques qui ont pourtant semblé perturber plusieurs candidats : couler un gel d'agarose, faire des dépôts dans un gel de polyacrylamide... De même, la conception des témoins indispensables à l'analyse des résultats a souvent fait défaut. Ces témoins sont attendus par le jury, même si leur réalisation n'est pas explicitement demandée dans le sujet. Enfin, une partie des candidats ne maîtrise pas suffisamment l'usage du matériel de base d'un laboratoire de biotechnologies.

Le jury rappelle que le dossier technique présente des informations essentielles pour répondre aux questions du rapport d'activité.

De façon à traiter le sujet proposé dans de bonnes conditions, il était important comme d'accoutumé d'organiser le temps de manipulation de manière optimale, en prenant en compte notamment la durée des manipulations individuelles ainsi que les temps morts générés par les modes opératoires. Dans le cas présent, il était pertinent de débiter par les manipulations comportant des électrophorèses sur gels.

Le matériel nécessaire pour réaliser l'ensemble des manipulations du sujet est conséquent et vient encombrer les paillasses. Une majorité des candidats a réussi cependant à s'aménager un espace de travail organisé pour réaliser les manipulations. Rappelons que la liste de matériel à utiliser pour les manipulations est indiquée dans chaque fiche technique, permettant ainsi de s'organiser au mieux.

Les expériences réalisées nécessitaient souvent le port de gants, mais pour des raisons différentes : protection des échantillons, du candidat ou limitation des contaminations. Il est à noter que certains candidats portent les gants du début à la fin de l'épreuve sans discrimination, ce que le jury a sanctionné, alors que d'autres sont vigilants et ôtent les gants lorsqu'ils ne sont pas nécessaires : notamment pour rédiger, utiliser les appareils de mesure, manipuler le clavier des ordinateurs. Les candidats devaient porter des lunettes de protection pour manipuler la soude ou le réactif de Bradford. Celles-ci ont trop souvent été oubliées. Rappelons que l'identification des dangers et la mise en œuvre des moyens de prévention doivent être pris en compte du début à la fin de l'épreuve pratique.

D'un point de vue pratique, cette épreuve demandait de nombreux pipetages : soit des micropipetages pour lesquels il faut vraiment regarder le volume prélevé, ainsi que le volume déposé, soit des pipetages nécessitant une maîtrise suffisante pour obtenir des résultats fiables. Certains candidats pipettent encore de manière artistique et non conventionnelle, mais le jury se félicite d'une amélioration par rapport aux années précédentes.

Comme toujours, la présentation des résultats de mesure et des calculs nécessitait de ne jamais omettre les unités. Cette année les candidats ont été plus nombreux à vérifier systématiquement les équations aux unités permettant de valider et exploiter les équations aux grandeurs proposées. Cette rigueur dans la rédaction des calculs est indispensable pour le métier d'enseignant en biotechnologies mais aussi pour rédiger une suite de calculs sans erreur. Rappelons qu'il est possible lorsqu'une manipulation n'a pas pu être réalisée par manque de temps ou à la suite d'une erreur, d'engager une réflexion sur un résultat attendu, un calcul à produire...

Par ailleurs, le jury rappelle que tous les résultats bruts doivent être référencés, et correctement annotés, soit directement dans la copie, soit dans les fichiers informatiques du dossier candidat. Une fois les équations aux unités exposées dans la copie, il est possible de présenter les résultats dans une feuille de calcul correctement présentée et légendée. De même, l'intégralité des documents (photos de gels, plan de dépôts, feuilles exacompta...) doit également être collée et correctement annotée et référencée.

Le jury invite aussi les candidats à ne pas négliger les formes de communications que sont les tableaux et schémas qui peuvent faire gagner du temps par rapport à une longue explication rédigée et sont aussi l'occasion pour les candidats de faire preuve d'un esprit de synthèse. Lorsque plusieurs échantillons sont étudiés, il est conseillé d'expliquer une fois le calcul permettant l'exploitation des indications de mesure, puis de présenter l'ensemble des résultats dans un tableau récapitulatif, plutôt que de rédiger plusieurs fois les mêmes calculs ou de présenter des résultats à la suite les uns des autres. De même la présentation des graphes demande de respecter certaines règles : titre / titre et unités des axes / légendes si plusieurs courbes. Les graphes étaient généralement bien présentés. Notons cependant qu'un titre du type « absorbance en fonction de la concentration » n'apporte aucune information autre que celles déjà indiquées sur les axes et ne convient donc pas.

La maîtrise des outils informatiques type tableur est indispensable pour l'analyse et la présentation des résultats. Le jury souhaite attirer l'attention des candidats sur le fait que l'outil bioinformatique est devenu incontournable dans nos pratiques professionnelles, et qu'il fera l'objet d'évaluations récurrentes dans les années à venir.

D'autre part, le jury est conscient que la gestion du temps est un exercice difficile, mais qu'il n'excuse pas l'absence flagrante de rigueur dans la rédaction des rapports d'activités. Le style télégraphique notamment, n'est pas acceptable à ce niveau et de la part de futurs enseignants.

PARTIE 1 : MISE EN EVIDENCE DE L'INTERACTION ENTRE PB2 ET LES PROTEINES DDB1 ET DCAF12L1

Le jury attendait un choix argumenté des enzymes de restriction à utiliser pour vérifier l'identité des plasmides. Le choix de BbsI permettait par exemple de discriminer simplement les 4 plasmides.

Trop de candidats n'ont pas pensé à déposer les plasmides non digérés, ce qui aurait permis de vérifier leur intégrité et donc de répondre à une des attentes du sujet. Le jury regrette que les notions de conformation et d'intégrité d'un plasmide ne soient pas maîtrisées par la quasi-totalité des candidats.

D'autre part, la présentation de la composition des milieux réactionnels de digestion nécessitait une approche autant qualitative que quantitative. Le jury rappelle par ailleurs que l'exploitation rigoureuse d'un profil de digestion nécessite au préalable l'annotation des bandes du marqueur de taille.

PARTIE 2 : DETERMINATION DES RESIDUS UBIQUITINYLES DE PB2

Le dosage de Bradford a mis en évidence des erreurs méthodologiques peu acceptables de la part des candidats : non dilution de l'étalon de façon à pipeter des volumes fiables, conception de la gamme d'étalonnage sur 2 points, disparition mystérieuse des valeurs expérimentales non alignées, calculs des concentrations des échantillons... Le jury rappelle que l'exploitation d'une gamme d'étalonnage ne suit pas forcément une modélisation linéaire, et qu'une exploitation polynomiale permet parfois d'obtenir de meilleurs résultats.

Concernant la manipulation de Dot-Blot, trop peu de candidats pensent à réaliser les témoins appropriés, et proposent des témoins fantaisistes. Le jury attendait ici en particulier un témoin permettant de vérifier l'efficacité de la révélation des immunodétections en déposant l'anticorps marqué directement sur la membrane.

PARTIE 3 : EFFET DE L'UBIQUITINYLATION SUR LA STABILITE DE PB2

Bien qu'une part importante des candidats aient obtenu des résultats exploitables, peu d'entre eux ont réalisé une exploitation satisfaisante de leurs résultats. En particulier, l'ubiquitinylation non dégradative de PB2 les a parfois perturbés.

PARTIE 4 : IMPORTANCE POUR LE CYCLE VIRAL

Le jury regrette que très peu de candidats aient consacré du temps à l'exploitation des résultats fournis. Et d'autre part, les quelques exploitations présentées manquaient cruellement de rigueur.

PARTIE 5 : BILAN DE L'ETUDE

Un seul candidat a abordé cette question et proposé un schéma de synthèse des différents résultats obtenus. La capacité à synthétiser de manière claire un ensemble de données est une qualité importante recherchée chez les futurs enseignants.

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

Effet d'une faible dose d'antibiotique sur *Escherichia coli* : un stress pour la bactérie ?

Introduction

Les antibiotiques sont des composés chimiques produits naturellement par des microorganismes pour tuer ou inhiber la croissance d'autres organismes. L'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques en médecine et en agriculture a entraîné une augmentation de la présence de ces molécules dans l'environnement, même à faibles concentrations. Ce phénomène peut favoriser l'apparition de résistances aux antibiotiques chez les bactéries, ce qui peut rendre les infections plus difficiles à traiter chez les humains et les animaux. Il est ainsi devenu primordial d'avoir une meilleure compréhension de l'impact des faibles concentrations d'antibiotiques sur les bactéries pour ralentir l'émergence de la résistance apparue ces dernières années.

Il a été montré que différents facteurs (chaleur, pH, antibiotique, etc.) induisent une réponse générale au stress médiée par le facteur sigma RpoS (σ S) (figure 1). Cette réponse au stress a pour conséquence une modification de la régulation de plusieurs centaines de gènes chez la bactérie, permettant à celle-ci de présenter un ensemble de résistances induites. L'induction de cette réponse reste encore à élucider malgré plusieurs travaux montrant l'implication de certains gènes dans l'activation de cette voie.

Les activités expérimentales permettront :

1 – D'étudier l'activation de la voie de signalisation générale de réponse au stress après un traitement d'*Escherichia coli* avec un antibiotique « A » à faible concentration (50 % de la concentration minimale inhibitrice ou CMI).

2 – D'évaluer l'implication des gènes *adamS*, *evaD* et *yfaD* dans l'induction de cette voie.

Le sujet est organisé en trois parties :

Partie A : Construction d'un mutant de délétion *yfaD* par transduction.

Partie B : Étude de la réponse au stress au cours de croissances en milieu liquide.

Partie C : Mise en évidence de l'effet d'un stress en milieu solide.

Des figures et des annexes sont proposées en fin de sujet.

Données

Coefficient de correspondance : $1 \text{ DO}_{600} \text{ (atténuation)} \leftrightarrow 10^8 \text{ bactéries} \cdot \text{mL}^{-1}$ dans la limite d'une DO_{600} de 0,8

Définition de la multiplicité d'infection (ou MOI) = nb phages/nb bactéries

3 solutions d'antibiotiques disponibles : A ($2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ et $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) et B ($100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Matériel général à disposition

Agitateur-secoueur mécanique (« vortex »)

Bac à glace

Bec électrique

Billes de verre et pot de récupération des billes

Boîtes de Petri stériles

Calculatrice basique

Carton pour incubateur à 37 °C

Centrifugeuses de paillasse pour microtubes (3 par salle)

Chronomètres (2 par poste)

Eau physiologique stérile (tubes de 9 mL pour la salle, et un flacon de 20 mL par poste)

Microcuves « visible » pour spectrophotomètre avec portoir

Microtubes de 2 mL stériles

Ordinateur

Parafilm prédécoupé

Pinces

Pipettes automatiques P1000, P200, P20, P10 (ou P5) et cônes adaptés

Pipettes graduées stériles de 1 et 10 mL, systèmes d'aspiration à roulette et propipettes

Pipettes Pasteur stériles

Pissettes d'eau distillée, d'éthanol

Poubelle DASRI

Spectrophotomètres (réglés à 420 ou 600 nm)

Tubes à hémolyse 5 mL stériles et portoirs adaptés

Tubes coniques 15 mL stériles et portoirs adaptés

A) Construction d'un mutant de délétion de *yfaD* par transduction.

La transduction est un processus par lequel des bactériophages sont capables de transférer des fragments d'ADN d'une bactérie à une autre. La connaissance de ce mécanisme naturel peut être utilisée pour introduire de manière volontaire certains gènes dans des bactéries. Ici l'objectif est de construire un mutant de délétion du gène *yfaD* par transduction avec deux MOI différentes : 2.10^{-2} et 2.10^{-3} . Un témoin de la manipulation sera également conçu et réalisé.

Matériel spécifique à disposition

Bain à sec à 37 °C pour microtubes (2 par salle)
Bouillon LB stérile (1 flacon de 50 mL par poste)
LA en surfusion (3 tubes de 20 mL par poste)
MgSO₄ à 1 mol · L⁻¹ (500 µL)
CaCl₂ à 1 mol · L⁻¹ (500 µL)
Citrate de sodium à 1 mol · L⁻¹ (5 mL)
Antibiotique adéquat
Souche *E. coli* notée réceptrice en LB (5 mL)
Phage P1 portant la délétion du gène *yfaD* (figure 2), en LB au titre de 10⁷ UFP · mL⁻¹ (100 µL)

Procédure pour une transduction

- Dans un microtube de 2mL, déposer :
 - 900 µL de LB MgSO₄ 30 mmol · L⁻¹, CaCl₂ 15 mmol · L⁻¹,
 - 200 µL de la culture réceptrice ajustée à 2.10^8 bactéries · mL⁻¹,
 - un volume adéquat de phages.
- Incuber à 37 °C pendant 20 min en bain à sec.
- Centrifuger 2 min à 13 000 tours · min⁻¹.
- Éliminer le surnageant.
- Reprendre le culot dans 1,5 mL de LB Na citrate 0,02 mol · L⁻¹.
- Incuber à 37 °C pendant 1 h en bain à sec.
- Centrifuger 2 min à 13 000 tours · min⁻¹.
- Éliminer le surnageant.
- Reprendre le culot dans 0,15 mL de LB Na citrate à 0,02 mol · L⁻¹.
- Préparer une boîte LA contenant 100 µg · mL⁻¹ de l'**antibiotique adéquat** + Na citrate à 0,02 mol · L⁻¹ à partir de LA en surfusion.
- Étaler avec des billes 0,1 mL de la suspension sur la boîte préparée à l'étape précédente.
- Incuber les boîtes à 37 °C pour la nuit.

Questions

Tous les choix techniques doivent être justifiés, même ceux qui ne sont pas directement concernés par des questions. La clarté de la présentation des explications et des calculs sera évaluée. Les boîtes devront être identifiées clairement ; elles seront observées par le jury en l'absence des candidats.

1. Justifier le volume de phages utilisé pour chaque MOI.
2. Fournir et justifier la composition du témoin de transduction.
3. Argumenter le choix de l'antibiotique utilisé.
4. Expliquer le rôle du Na citrate dans la transduction.

B) Étude de la réponse au stress au cours de croissances en milieu liquide.

Le suivi de la croissance en conditions particulières revêt une importance cruciale pour comprendre la fonction d'un gène. La comparaison de croissances en l'absence et en présence d'une faible concentration d'antibiotique « A » sera effectuée pour évaluer l'activation de la voie de signalisation de réponse au stress mettant en jeu RpoS (figure1). Ces croissances concerneront deux souches d'*Escherichia coli* ayant subi respectivement la suppression du gène *adamS* d'une part et du gène *evaD* d'autre part.

L'objectif de notre étude est de caractériser lors du suivi de la croissance les effets physiologiques et l'induction de la voie de signalisation de réponse au stress pour l'antibiotique "A" sur ces deux souches bactériennes.

Matériel spécifique à disposition

Bain thermostaté agité à 37 °C (3 par salle)
Colorant cytologique bleu de méthylène (commun dans la salle)
Hotte chimique (1 par salle)
Lames et lamelles
Microscope
Chloroforme (1 mL)
Na₂CO₃ 1 mol · L⁻¹ (10 mL)
ONPG 4 mg · mL⁻¹ en tampon Z (7 mL)
SDS 0,1 % (1 mL)
Tampon Z (5 mL)
Antibiotique « A » à 2 mg · mL⁻¹ (2 mL)
Boîtes de Pétri de milieu LA (6 par poste)
Milieu LB (par poste : 4 erlenmeyers de 50 mL et 1 flacon de 50 mL)
Souche *E. coli* Δ *evaD* Δ *lacZ** Promoteur_{rpoS}::*lacZ* (figure 3) en LB (5mL)
Souche *E. coli* Δ *adamS* Δ *lacZ** Promoteur_{rpoS}::*lacZ* (figure 3) en LB (5mL)
(* La souche *E. coli* de départ a été déléetée du gène *lacZ* chromosomique)

Objectifs

Déterminer les temps de génération de 2 souches (Δ evaD et Δ adamS), avec et sans antibiotique « A » à $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Contrôler le coefficient de correspondance entre la « DO₆₀₀ » et la concentration bactérienne fourni en début de sujet, pour l'une des deux souches.

Doser la réponse au stress dans les conditions utilisées.

Observer l'effet de l'antibiotique sur la morphologie des bactéries Δ evaD à t=120 min.

Conditions de croissance

50 mL de LB en erlenmeyer

Concentration bactérienne initiale (t=0) : 10^6 bactéries $\cdot \text{mL}^{-1}$

Culture en bain d'eau à 37°C sous agitation (120 tours par minute)

Mesures à effectuer

DO_{600nm} à 0, 60, 90, 120, 150 et 180 minutes. **Montrer la mesure de DO à t0 au jury. Montrer un prélèvement au jury.**

Réponses au stress à 0, 120, 180 minutes, pour les 4 conditions, mesurées extemporanément. **Montrer une mesure d'absorbance au jury.**

Procédure de mesure de la réponse au stress par dosage de la β -galactosidase

- Prélever 0,9 mL de culture, en microtube de 2 mL.
- Ajouter sous hotte chimique :
 - 0,1 mL de tampon Z,
 - 20 μL de chloroforme,
 - 10 μL de SDS 0,1%.
- Vortexer énergiquement les tubes environ 10 s.
- Attendre 5 min à température ambiante.
- Ajouter 200 μL d'ONPG.
- Après 15 min, ajouter 500 μL de Na_2CO_3 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.
- Centrifuger les tubes pendant 2 min à $13\,000 \text{ tours} \cdot \text{min}^{-1}$.
- Lire les absorbances à 420 nm des surnageants contre un blanc adéquat constitué en même temps que les essais.

Le calcul de l'activité de la β -galactosidase en unité Miller se fait d'après la formule suivante :

$$\text{Activité}_{\beta\text{gal}} = 1000 \times \frac{\text{Abs}_{420\text{nm}}}{\Delta t \times V \times \text{DO}_{600\text{nm}}}$$

(avec Δt = temps de la réaction en min, et V = volume de la culture en mL)

Questions

Tous les choix techniques doivent être justifiés, même ceux qui ne sont pas directement concernés par des questions. La clarté de la présentation des explications et des calculs sera évaluée. Les boîtes devront être identifiées clairement ; elles seront observées par le jury en l'absence des candidats.

5. Suivre les croissances et les dosages des activités β -galactosidase à l'aide d'un tableur. Le fichier, enregistré sur le bureau de l'ordinateur, sera récupéré par le jury en fin de séance.
6. Indiquer la composition du blanc pour le dosage de l'activité β -galactosidase.
7. Expliquer l'intérêt du tampon Z.
8. Présenter par écrit les résultats d'observations microscopiques. Faire contrôler par le jury le champ microscopique correspondant à cette observation.
9. Répondre aux autres objectifs de la partie B.
10. Proposer en justifiant une famille d'antibiotique pour l'antibiotique « A ».
11. Conclure sur la voie de signalisation empruntée lors de la réponse à un stress par l'antibiotique « A ».

C) Mise en évidence de l'effet d'un stress en milieu solide.

Objectif

Visualiser la réponse à l'antibiotique A des souches $\Delta evaD$ et $\Delta adamS$.

Matériel spécifique à disposition

Boîtes de Petri vides (4 par poste)
Milieu LA en surfusion (4 tubes de 20 mL par poste)
Gélose « Top-agar » en surfusion (4 tubes de 5 mL par poste)
Disques en papier stériles (10 par poste)
Solution de X-Gal $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (250 μL)
Antibiotique « A » à $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (2 mL)
Souche *E. coli* $\Delta evaD \Delta lacZ^*$ Promoteur_{rpoS}::lacZ (figure 3) en LB (5mL)
Souche *E. coli* $\Delta adamS \Delta lacZ^*$ Promoteur_{rpoS}::lacZ (figure 3) en LB (5mL)
(* La souche *E. coli* de départ a été délétée du gène lacZ chromosomique)

Procédure

Concevoir en parallèle un témoin de spécificité du test.

- Couler dans une boîte de Pétri 20 mL de LA additionné de X-Gal à $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.
- Attendre que la gélose se solidifie.
- Couler par-dessus 5 mL une surcouche (« top agar ») additionnée d'un volume de la culture fournie des souches $\Delta evaD$ ou $\Delta adamS$, tel que la dilution finale soit au $1/100^{\text{ème}}$.
- Attendre que la gélose de la surcouche se solidifie.
- Déposer un disque sur la gélose.
- Déposer 5 μL de l'antibiotique « A » à $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ sur le disque.
- Incuber les boîtes à 37°C pour la nuit.

Questions

Tous les choix techniques doivent être justifiés, même ceux qui ne sont pas directement concernés par des questions. La clarté de la présentation des explications et des calculs sera évaluée. Les boîtes devront être identifiées clairement ; elles seront observées par le jury en l'absence des candidats.

12. Présenter sous forme d'un schéma la procédure suivie dans cette partie.
13. Expliquer le principe de mise en évidence d'un stress en milieu solide mis en œuvre dans cette partie.
14. Proposer les différents résultats qui pourraient être obtenus à l'issue de cette partie.

Figure 1 – Voie de réponse générale au stress

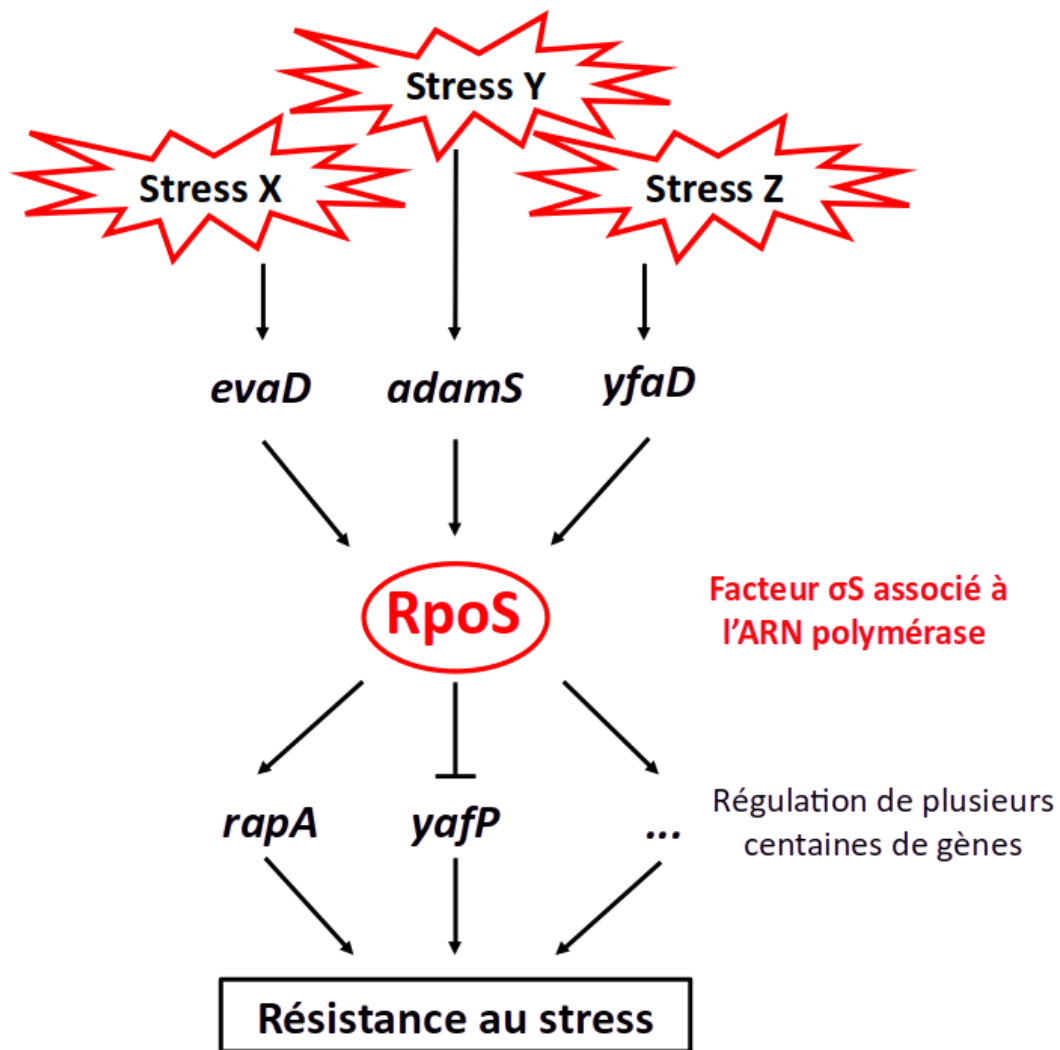


Figure 2 – Organisation des génomes phagique et bactérien

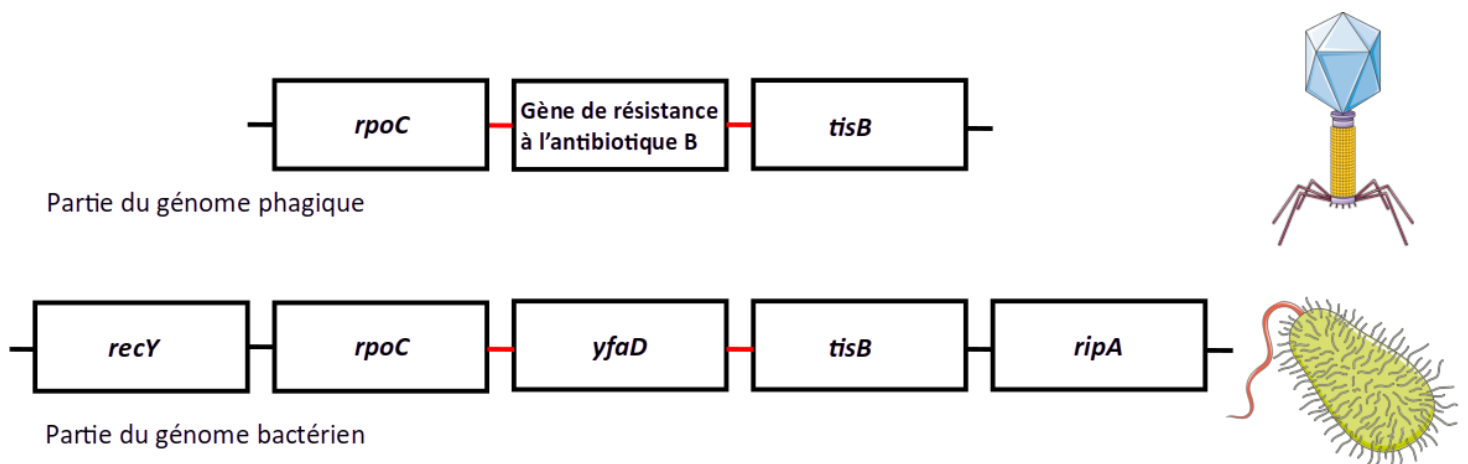
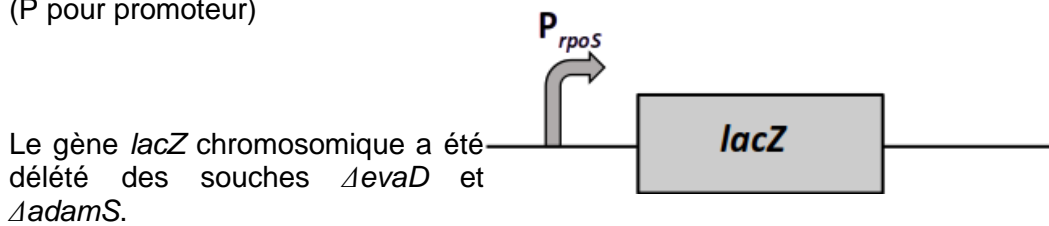


Figure 3 – Construction génomique du rapporteur utilisé pour le suivi de l'induction de la réponse générale au stress

(P pour promoteur)



Annexe 1 – Composition des milieux de cultures et des tampons

Milieu Luria Bertani (LB) selon Miller (1 L)

Tryptone	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
NaCl	10,0 g
Eau distillée	qsp* 1 L
pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C :	7,0 ± 0,2

Milieu « LA » = milieu LB gélifié : idem, mais avec agar 15 g · L⁻¹ en sus

Top agar 7 (1 L)

Bacto-tryptone	10 g
NaCl	2,5 g
Agar	7,0 g
Eau distillée	qsp* 1 L

Tampon Z (1 L)

Na ₂ HPO ₄ , 2 H ₂ O	10,7 g
NaH ₂ PO ₄	5,5 g
KCl	0,75 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,246 g
β-mercaptoéthanol	3 mL
Eau distillée	qsp* 1 L

*→ qsp = quantité suffisante pour

TRAVAIL DU DEUXIÈME JOUR

Les résultats du premier jour sont relevés par les candidats et ramassés avant la remise du sujet du second jour.

L'antibiotique A utilisé en J1 était de l'ampicilline (β -lactamine).

D) Interprétation des résultats des activités du premier jour

L'annexe 2 propose des résultats.

COMPTE-RENDU

15. Interpréter les résultats proposés.
16. Calculer l'efficacité de transduction pour les deux MOI.
17. Proposer une solution pour vérifier la construction génétique du transductant obtenu.

E) Analyse de croissance par technique de microfluidique

La figure 4 présente un dispositif de microfluidique permettant de suivre la croissance d'une bactérie ; la figure 5 présente des résultats obtenus en mettant en œuvre ce procédé.

COMPTE-RENDU

18. Déterminer les temps de génération.
19. Comparer ces résultats aux observations microscopiques.
20. Discuter des avantages et inconvénients de la technique de microfluidique par rapport à la culture du J1.
21. Conclure sur l'effet de l'ampicilline à $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Annexe 2 – Résultats proposés à l'interprétation

Partie A : Construction d'un mutant de délétion *yfaD* par transduction.

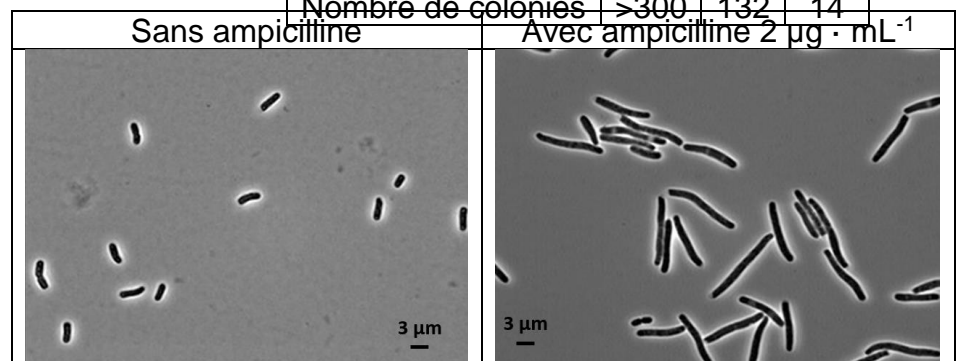
	Souche réceptrice		
	Sans phage (témoin)	Avec phage MOI $2 \cdot 10^{-2}$	Avec phage MOI $2 \cdot 10^{-3}$
Nombre de colonies	0	34	5

Partie B : Étude de la réponse au stress au cours de croissances en milieu liquide.

Dénombrement à deux boîtes de milieu LA par dilution, dépôt 100 μL , effectué sur la souche ΔevaD de $\text{DO}_{600} = 0,323$.

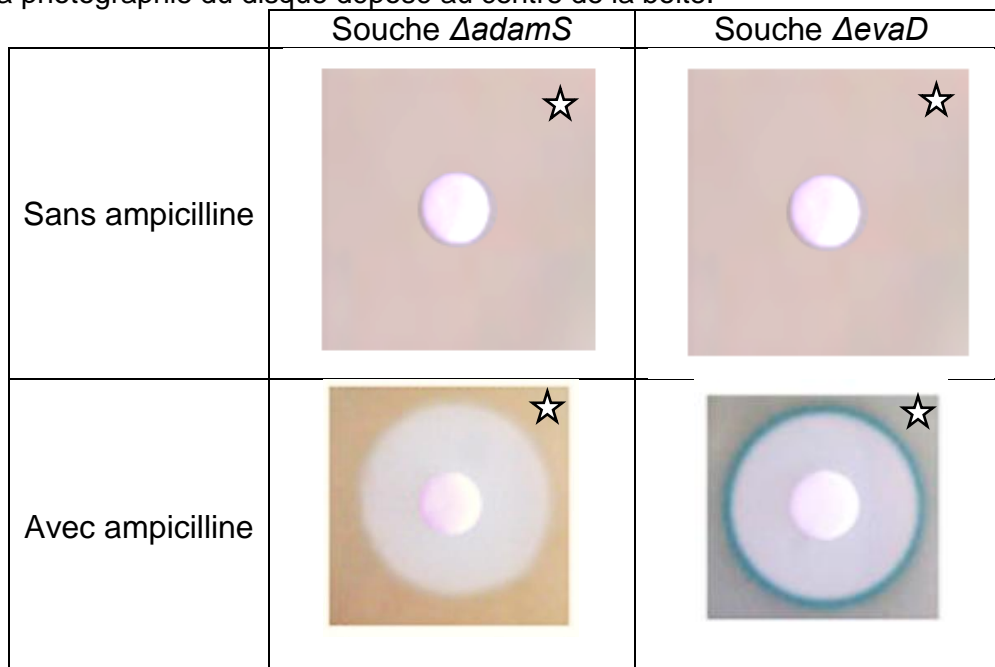
Dilution	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
Nombre de colonies	>300	137	9
Nombre de colonies	>300	132	14

Observation microscopique (en contraste de phase) de la souche ΔevaD avec et sans ampicilline.



Partie C : Mise en évidence de l'effet d'un stress en milieu solide.

Détail de la photographie du disque déposé au centre de la boîte.



Légende : ☆ indique une zone de culture microbienne (tapis microbien).

Figure 4 – Dispositif de microfluidique

To investigate heterogeneity phenomena within a bacterial population, a laboratory-based microfluidic system called the "mother machine" has been developed. This technology facilitates the monitoring of growth parameters in **individual bacteria**, including restart time, size, and division time.

The methodology involves trapping a bacterium at the bottom of a microchannel and continuously supplying it with a replenished medium. The microfluidic chip assembly is positioned under a microscope, and sequential images are captured at 5-minute intervals. Subsequently, utilizing image processing techniques capable of accurately determining bacterial size, a graph illustrating the temporal evolution of the bacterium's size is generated. Analyzing this graph provides valuable insights into various aspects of the bacterial population.

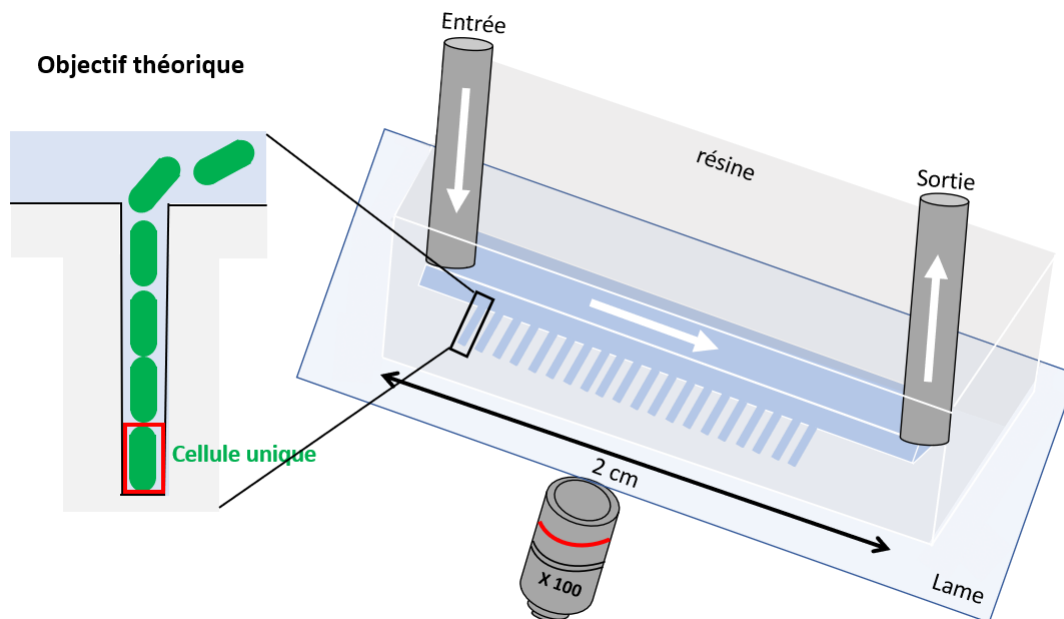
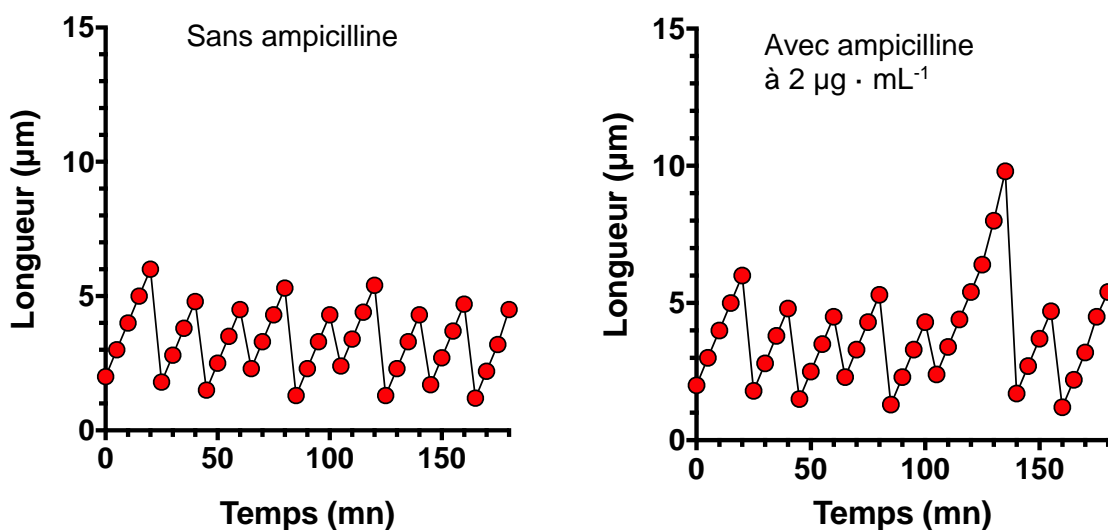


Figure 5 – Résultats obtenus en microfluidique



RAPPORT DU JURY DE TP DE MICROBIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,41 / 20**
- Meilleure note : **17,00 / 20**
- Note la plus basse : **03,50 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **62 %**
- Moyenne des candidats admis : **12,43 / 20**

Le sujet proposait d'étudier les voies de réponse au stress chez les bactéries, dans le cadre d'une exposition à de faibles concentrations d'un antibiotique connu, l'ampicilline ; les activités proposées étaient, en jour 1 :

Partie A : construction d'un mutant de délétion *yfaD* par transduction

Partie B : étude de la réponse au stress au cours de croissances en milieu liquide en présence d'antibiotique

Partie C : mise en évidence de l'effet d'un stress en milieu solide

et en jour 2 :

Partie D : lecture des résultats obtenus à partir des techniques mises en œuvre en jour 1 et analyse de résultats fournis.

Partie E : analyse de croissance par technique de microfluidique.

COMMENTAIRES GENERAUX

Le jury a évalué les compétences suivantes :

- Organiser son travail.
- Concevoir des procédures de travail.
- Réaliser des procédures de travail.
- Présenter le rapport.
- Analyser des données et exploiter des résultats.
- Calculer.
- Réinvestir ses savoirs.

Cette approche a permis de classer finement les candidats grâce à des descripteurs variés couvrant l'ensemble de ces compétences essentielles. Si le travail au poste est évalué par l'examineur en charge de la salle, les résultats obtenus et les copies ont été évalués en collégialité dans un souci constant d'équité entre les candidats.

Dans un souci d'équité également et de manière à pouvoir évaluer les capacités d'analyse de tous

les candidats, la réflexion du jour 2 était à faire sur des résultats fournis. Les candidats ont relevé leurs propres résultats et ont rendu une première copie dans laquelle il était attendu un effort sur la qualité de la présentation. Ensuite des résultats types ont été exploités. De cette manière, les erreurs du premier jour, déjà sanctionnées, n'ont pas eu de répercussion sur l'évaluation du deuxième jour.

En fin d'épreuve, la totalité des documents des candidats (copies bien sûr, mais aussi sujet et brouillons) sont ramassés, mais il est très important de noter que **seules les copies sont évaluées**. En effet, le jury tient à rappeler que les brouillons ne sont pas évalués. Plusieurs candidats rendent ainsi des parties de sujet quasiment « blanches » alors que leurs brouillons contenaient des développements parfois pertinents. Pour les prochaines sessions, le jury suggère aux candidats de **rédigier directement sur leur copie** : le sujet est toujours dense et long, écrire deux fois les mêmes informations est une perte de temps. Au niveau du concours, les brouillons ne devraient servir tout au plus à jeter une idée, esquisser un raisonnement ou un calcul complexe.

Cette année, le sujet indiquait clairement que tous les choix et raisonnements faits (composition d'un témoin, dilution pour ajuster une suspension microbienne, calculs de volumes de réactifs pour préparer un milieu, etc...) devaient être clairement présentés même s'ils n'étaient pas l'objet d'une question explicite. Cela n'a pas toujours été le cas et des candidats ont ainsi perdu le bénéfice d'une justification qui était attendue. En dehors de toutes ces explications et calculs qui devaient être justifiés « au fil de l'eau », la réponse aux questions numérotées devait être à chaque fois clairement identifiée, ce qui n'a pas toujours été le cas.

À PROPOS DES CANDIDATS

Le sujet est dense et long, il nécessite donc une bonne organisation. La capacité de planification d'un travail technique et de priorisation des tâches est un élément que le jury cherche à évaluer. Le sujet présentait trois parties ordonnées selon une logique scientifique : construction du mutant modèle puis étude d'une souche mutante fournie. Mais la deuxième partie (une croissance en milieu liquide avec un suivi sur plusieurs heures) nécessitait un lancement rapide et aurait dû être traitée en premier : seuls quelques candidats lancent cette partie assez tôt pour pouvoir en tirer un bénéfice significatif. En effet, un dosage devait être effectué sur le temps 180 minutes. Beaucoup de candidats ont passé une voire deux heures à développer tous leurs calculs, et n'ont pu qu'à peine entamer la croissance des souches.

La majorité des candidats organisent et gèrent correctement leur poste de travail ; les bonnes pratiques sont majoritairement respectées, et le bec électrique convenablement utilisé. Cette année, le jury n'a pas relevé d'erreur technique récurrente majeure.

Des gestes devaient être présentés aux examinateurs : le sujet l'indiquait clairement et cela a été rappelé à l'oral. Pourtant, trop de candidats oublient d'appeler l'examineur le moment venu.

Des erreurs grossières ont parfois été faites sur des calculs simples. Par ailleurs, il faut soigner la présentation des calculs surtout complexes : une formule littérale ou équation aux grandeurs, aux unités puis une équation aux valeurs numériques sont attendues pour expliciter le calcul, en visant la compréhension du lecteur comme avec des élèves. Cette lisibilité était évaluée et le sujet l'avait annoncé.

Plusieurs candidats positionnent mal les cuves dans le spectrophotomètre. Le trajet du faisceau est

toujours facilement discernable dans ce type d'appareil et il faut savoir s'adapter au matériel proposé. Comme énoncé au début de l'épreuve, il est toujours possible de poser des questions au jury en cas de doute.

Lors du passage au spectrophotomètre, il convient d'homogénéiser les suspensions bactériennes tout en respectant la prévention des risques : il faut impérativement effectuer plusieurs retournements successifs de la cuve correctement parafilmée. Des candidats passent dans l'appareil des cuves non parafilmées et c'est regrettable. Attention aussi à ce que la cuve soit correctement enfoncée. Il est rappelé qu'un volume minimal dans les cuves est nécessaire pour permettre une lecture exacte.

Des candidats se perdent et intervertissent leurs cuves qui ne sont pas individuellement identifiées. Une identification correcte de tous les contenants fait partie des bonnes pratiques. De même, l'annotation des boîtes de Pétri préalablement à l'incubation doit être correctement effectuée et complète.

PARTIE A (jour 1)

Construction d'un mutant de délétion *yfaD* par transduction

Cette partie consistait en la construction d'un mutant délété dans l'une des trois voies de réponse au stress, par transduction classique à l'aide d'un phage porteur d'un gène rapporteur de résistance à un antibiotique, en testant deux MOI distinctes. Les candidats devaient :

- ajuster les suspensions microbiennes,
- calculer les volumes de réactifs et de phages,
- concevoir et réaliser un témoin.

COMMENTAIRES :

La technique ne présentait pas de difficulté particulière et était présentée dans le sujet. La plupart des candidats se sont attelés à cette partie en premier.

Cette partie nécessitait la préparation de milieux additionnés de différents réactifs. Il est judicieux de préparer un volume suffisant pour la totalité des échantillons plutôt que de répéter le geste plusieurs fois. Cela constitue un gain de temps.

Parmi les candidats, les échecs les plus fréquents ont porté sur :

Le calcul lié à l'ajustement de la souche

La préparation des milieux supplémentés

La réalisation des boîtes suffisamment à l'avance pour permettre l'étalement en surface grâce aux billes fournies

PARTIE B (jour 1)

Étude de la réponse au stress au cours de croissances en milieu liquide

La caractérisation de mutants préalablement obtenus était réalisée par suivi de croissance en milieu liquide et la quantification de la réponse au stress induit par une faible concentration d'antibiotique était à l'aide d'un système rapporteur LacZ classique.

Les objectifs de la partie B étaient :

- Réaliser une étude différentielle des capacités de croissance des différents mutants.

- Au cours de cette croissance, mesurer la réponse au stress par un dosage de l'activité β -galactosidase.
- Observer les conséquences morphologiques du stress causé par l'antibiotique.
- En sus, il fallait contrôler le coefficient de correspondance entre l'atténuation et la concentration bactérienne à l'aide d'un dénombrement .

COMMENTAIRES :

Cette partie ne présentait pas de difficulté technique particulière, mais nécessitait une organisation et une planification rigoureuses. Les candidats devaient étudier en parallèle quatre cultures. Le suivi demandé de la croissance était long (3h) et répété, et devait être complété par des mesures d'activité enzymatique : il fallait donc commencer les travaux par cette partie, et lancer les croissances le plus vite possible. Il faut noter que les temps de mesures de l'atténuation demandés laissaient 1h entre le temps 0 et le premier point de manière à réfléchir aux autres parties du sujet. Trop de candidats ont abordé le sujet dans l'ordre de sa présentation et ont traité les trois parties consécutivement : en conséquence ils ont débuté la croissance après deux heures d'épreuve, trop tard pour mener à bout l'étude demandée. Des candidats ont même commencé la croissance une heure avant la fin de l'épreuve.

Le traitement des résultats de croissance devait être réalisé sur tableur. Dans l'ensemble, le logiciel est utilisé de manière acceptable ; cependant des insuffisances demeurent :

- insuffisance des légendes et unités présentées,
- confusion entre les logarithmes népérien et décimal,
- pas d'identification de la phase exponentielle,
- peu ou pas de droite de régression sur cette phase exponentielle,
- peu ou pas d'utilisation de la fonctionnalité permettant des calculs automatisés,
- pas de calcul de vitesse ou de temps de croissance.

Peu de candidats se sont engagés dans la caractérisation de la réponse au stress par le système rapporteur. Ceux qui l'ont fait n'ont pas réussi à mesurer plus qu'un ou deux points alors que trois étaient demandés. Cette partie a été clairement sacrifiée par les candidats. C'est dommage.

De plus, la partie enzymologie même si elle est effectuée en TP de microbiologie doit être réalisée avec application. Par exemple, le temps de la réaction devait être mesuré de manière précise.

Les observations microscopiques ne demandaient que peu d'effort et de temps, mais n'ont la plupart du temps pas été réalisées. Pour les candidats qui les ont faites, l'effet de l'antibiotique (une β -lactamine) sur la paroi n'a pas été clairement perçu.

La vérification du coefficient de correspondance atténuation et concentration microbienne, vraiment classique et facile par la mise en œuvre d'un dénombrement dont les détails pratiques étaient laissés à l'appréciation des candidats, n'a pas été réalisée par une grande partie des candidats.

PARTIE C (jour 1)

Mise en évidence de l'effet d'un stress en milieu solide

La caractérisation des mutants déjà obtenus était également réalisée en milieu solide.

Les objectifs de la partie C étaient :

- Vérifier l'effet de l'antibiotique sur les souches mutées.
- Visualiser l'induction de la réponse au stress généré par une concentration subléthale de l'antibiotique.

COMMENTAIRES :

Cette troisième partie ne présentait pas de difficulté, hormis la croissance inhabituelle de la bactérie en « top agar » qui était cependant parfaitement décrite par le sujet. Il s'agissait d'une technique originale et élégante, quoique simple à comprendre et à réaliser.

Très peu de candidats ont réalisé cette partie, débordés par les deux premières parties. Parmi ceux qui l'ont abordée, plusieurs l'ont fait trop tard et n'ont pas pu obtenir une solidification des deux couches. Enfin, des candidats ont commis des erreurs de calculs de dilution. Au final, cette partie pourtant très accessible n'a été que très peu réussie.

PARTIE D (jour 2)

Exploitation des résultats du premier jour

Les candidats devaient relever leurs résultats sans interprétation, pendant une durée limitée. Puis les résultats fournis étaient proposés à l'interprétation.

Les candidats disposaient, en plus, des sujets du jour 1 ainsi que d'un droit de regard sur leur copie du J1.

Là encore, la clarté des raisonnements et des calculs, la concision et la précision des réponses ont été appréciées.

L'analyse des témoins dont la validation est nécessaire avant toute autre interprétation a trop souvent été oubliée.

PARTIE E (jour 2)

Analyse de croissance par technique de microfluidique

La fin du sujet proposait de s'intéresser à une technique innovante permettant aussi de caractériser les effets de faibles concentrations d'antibiotique sur la croissance à l'échelle des cellules individuelles. Cette partie théorique pouvait être l'occasion de rattraper des erreurs d'interprétations du jour 1. Il était intéressant de faire le lien entre cette expérience, les observations microscopiques ainsi que la détermination expérimentale du temps de génération effectuées en jour 1 et dont les résultats types étaient fournis en jour 2.

La conclusion finale, qui permettait aux candidats d'exposer leur compréhension globale du sujet, a montré de nombreux contre-sens quant à la signification de l'expression de la β -galactosidase.

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

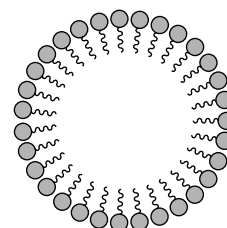
SUJET

Les tensioactifs, des molécules pour des édifices supramoléculaires : les micelles

Les tensioactifs sont des molécules le plus souvent allongées, comportant une extrémité hydrophile et une partie hydrophobe. En solution aqueuse, ces molécules peuvent s'organiser en donnant des agrégats microscopiques appelés micelles.



Schéma d'une
molécule de
tensioactif



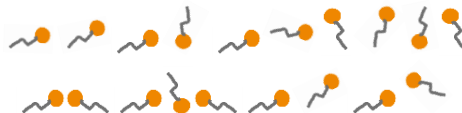
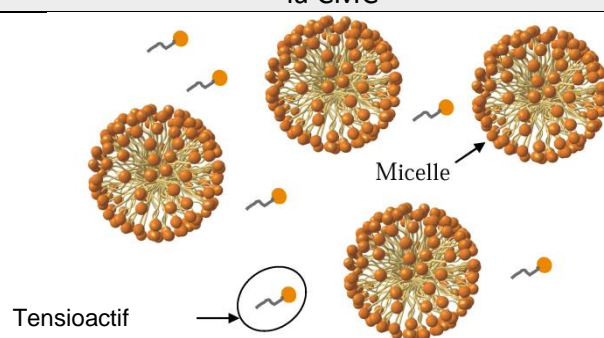
Vue en coupe d'une
micelle schématisée

Ce sujet se compose de deux parties. La première s'attache à la définition et à la détermination expérimentale de la concentration micellaire critique d'un tensioactif par deux méthodes différentes : l'une conductimétrique et l'autre spectrophotométrique. La deuxième partie traite de l'influence de ce tensioactif sur les vitesses de réactions mettant en jeu des molécules organiques.

L'énoncé comporte 17 pages dont une page de garde et sept pages d'annexes en fin de sujet. La page 16 est vierge et l'annexe 6 page 17 est à rendre avec la copie.

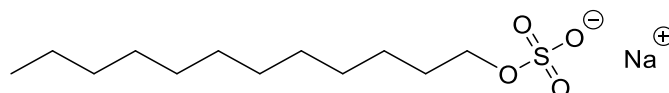
I. DETERMINATION DE CONCENTRATIONS MICELLAIRES CRITIQUES

La concentration micellaire critique (CMC) est définie comme la concentration minimale en tensioactif introduit dans une solution au-delà de laquelle apparaissent les micelles dans la solution :

Concentration en tensioactif introduit inférieure à la CMC	Concentration en tensioactif introduit supérieure à la CMC
	
Molécules de tensioactifs libres en solution	Structure d'un milieu micellisé

1. Détermination de la CMC d'un tensioactif par conductimétrie

Le dodécylsulfate de sodium (SDS) est un tensioactif ionique que l'on peut trouver dans les shampoings et eaux micellaires (nettoyant dermatologique) :



On dispose d'une solution S_0 préparée la veille, obtenue en suivant le protocole suivant :

- Peser une masse $m = 8,65$ g de SDS et la transvaser dans une fiole jaugée de 2,00 L.
- Procéder comme habituellement pour ajouter l'eau distillée, en s'arrêtant avant le trait de jauge.
- Attendre quelques heures avant d'ajuster au trait de jauge.
- Homogénéiser délicatement.

Q1. Quelle propriété du SDS justifie les précautions prises lors de la préparation de la solution ?

Q2. Déterminer la concentration molaire c_0 de la solution S_0 .

On se propose de déterminer la CMC du SDS dans l'eau distillée par conductimétrie. Pour cela, on souhaite mesurer la conductivité d'une solution de SDS de concentration connue, que l'on diluera petit à petit par ajouts successifs d'eau distillée, en suivant le tableau en annexe 6 page 17.

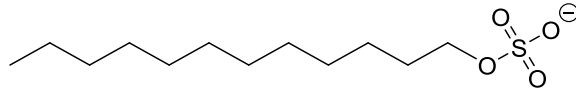
Protocole de détermination de la CMC du SDS par conductimétrie :

- étalonner le conductimètre (calibre automatique) avec la solution de chlorure de potassium fournie.
- préparer un montage permettant de suivre l'évolution de la conductivité σ d'un volume $V_0 = 20,0$ mL de solution S_0 auquel on ajoute de petits volumes d'eau distillée.
Appeler un examinateur pour vérifier le montage mis en place.
- relever la conductivité de la solution après chaque ajout d'eau distillée en complétant le tableau de valeurs en annexe 6 page 17.

- Q3. Donner l'expression de la valeur de la concentration de la solution en SDS introduit, notée c , en fonction de c_0 , V_0 et du volume d'eau distillée ajouté. Compléter la ligne correspondante dans le tableau de valeurs en annexe 6 page 17.
- Q4. Tracer le graphique représentant σ en fonction de c .
- Q5. Modéliser graphiquement chaque partie de la courbe par une fonction affine.
- Q6. À l'aide de la rupture de pente, déduire du graphique la valeur de la CMC du SDS dans l'eau distillée. Reporter la valeur obtenue en annexe 6 page 17 et la commenter au regard des valeurs présentées en annexe 2.

2. Structure d'un tensioactif et formation de micelles

Le SDS appartient à la catégorie des tensioactifs anioniques car c'est l'anion dodécylsulfate (présenté ci-contre) qui possède des propriétés amphiphiles.



- Q7. Proposer une définition du terme amphiphile et expliciter quelles sont les deux parties qui permettent de justifier ce terme.

Lorsque l'on introduit dans un mélange biphasique (tel l'eau et l'huile) un composé amphiphile, il se forme à l'interface des deux milieux une couche de tensioactifs.

- Q8. Proposer un schéma de cette couche en décrivant les interactions qui se développent entre les tensioactifs et chacune des phases.

En milieu aqueux, lorsque la concentration en dodécylsulfate de sodium introduit dépasse la CMC, le SDS s'organise en micelles (vue en coupe sur le schéma ci-contre). La brique élémentaire de ces systèmes auto-assemblants de nouveau l'anion dodécylsulfate.



est

- Q9. Comment justifier d'un point de vue énergétique la formation des micelles ?

De la même façon que l'entropie d'une protéine dénaturée est significativement plus élevée que celle de la structure tertiaire de son état natif replié, l'assemblage des tensioactifs en micelles peut sembler entropiquement défavorable. En effet, en diminuant le nombre de conformations accessibles, la formation de micelles entraîne une diminution du nombre de degrés de liberté et donc de l'entropie conformationnelle.

- Q10. À l'aide éventuellement d'une analogie avec le repliement des protéines, interpréter le rôle du solvant pour justifier la formation des micelles d'un point de vue entropique.

Si on note N le nombre d'entités anioniques formant la micelle, il existe à la surface de la micelle $\beta \times N$ cations Na^+ avec $\beta < 1$, les autres ions Na^+ restant solvatés par l'eau.

- Q11. En déduire la charge d'une micelle solvatée en fonction de β et N .
- Q12. Lister les espèces chimiques intervenant dans la conductivité de la solution étudiée dans l'expérience de la partie 1, avant l'apparition de micelles d'une part, et après leur apparition d'autre part.
- Q13. À l'aide de la loi de KOHLRAUSCH, justifier l'allure ascendante de la courbe σ en fonction de c obtenue à la question Q4.
- Q14. Proposer une interprétation à la rupture de pente observée lorsque c vaut la CMC.

3. Détermination de la CMC d'un tensioactif par spectrophotométrie

La CMC du SDS ayant été déterminée dans la partie 1 dans l'eau distillée, on souhaite dans cette partie déterminer la CMC du SDS dans un tampon phosphate.

On dispose d'une solution tampon préparée en suivant le protocole suivant :

Dans une fiole jaugée de 1,00 L,

- introduire 1,34 g d'hydrogénophosphate de sodium dihydraté, 8,00 g de chlorure de sodium, 0,400 g de dihydrogénophosphate de sodium dihydraté.
- compléter avec de l'eau distillée au trait de jauge en deux fois en homogénéisant.

Q15. *Citer les propriétés d'une solution tampon.*

Q16. *Déterminer les concentrations d'ions hydrogénophosphate et dihydrogénophosphate dans la solution et en déduire pourquoi il s'agit d'une solution tampon.*

Q17. *Estimer la valeur théorique du pH de cette solution tampon.*

La force ionique du milieu étant élevée, le pH réel est plus faible.

Protocole de détermination de la CMC du SDS par spectrophotométrie :

On dispose de la solution tampon décrite précédemment, d'une solution de SDS à $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (réalisée avec comme solvant la solution tampon) et d'une solution de bleu de bromothymol (BBT) à 150 mg.L^{-1} (réalisée avec comme solvant la solution tampon).

- Mesurer le pH de la solution tampon. Reporter votre valeur dans l'annexe 6 page 17.
- Réaliser la gamme de solutions suivantes dans des fioles jaugées de 25,0 mL :

N° de la solution	1	2	3	4	5	6	7
Volume de solution de BBT	5,0 mL						
Volume de solution de SDS	0	1	2	3	4	5	6
Volume de solution tampon	Pour compléter au trait de jauge						

- Mesurer l'absorbance A de chaque solution à la longueur d'onde de 610 nm et compléter le tableau de valeurs en annexe 6 page 17.

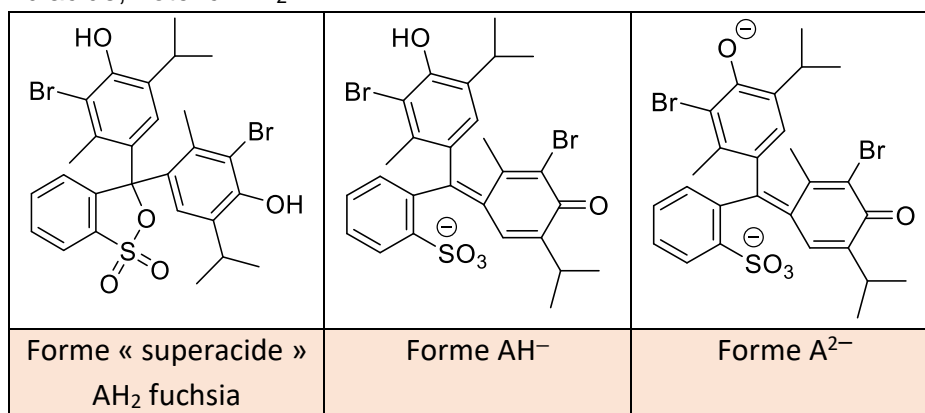
Q18. *Tracer le graphique représentant l'absorbance A en fonction de la concentration c en SDS introduit.*

Q19. *Modéliser graphiquement chaque partie de la courbe par une fonction affine.*

Q20. *À l'aide de la rupture de pente, déduire du graphique la valeur de la CMC du SDS dans le tampon phosphate. Reporter la valeur obtenue en annexe 6 page 17 et la commenter au regard des valeurs présentées en annexe 2.*

4. Propriétés acido-basiques du BBT en milieu micellaire

Le BBT est un diacide, noté ici AH₂ :



Spectres d'absorption UV-visible :

À partir des solutions de BBT fournies, à pH = 2 et pH = 12 (indiquées pH = 2 et pH = 12), réaliser les spectres d'absorption UV-visible de la forme AH⁻ et de la forme A²⁻.

- Q21. Représenter sommairement en annexe 6 page 17 les spectres obtenus.
- Q22. À l'aide des spectres d'absorption UV-visible réalisés, expliquer les couleurs des formes AH⁻ et A²⁻ du BBT en solution aqueuse.
- Q23. Tracer sommairement le diagramme de prédominance du BBT et en déduire la forme prédominante dans la solution tamponnée.
- Q24. Expliquer la couleur de la solution observée dans les fioles réalisées partie 3.
- Q25. Justifier le choix de la longueur d'onde de travail en proposant deux avantages à travailler à 610 nm.
- Q26. Donner la loi de BEER-LAMBERT, avec la signification et l'unité de chacun des termes employés.
- Q27. Expliquer pourquoi l'absorbance de la solution étudiée dans l'expérience de la partie 3 est constante lorsque la concentration en SDS est inférieure à la CMC.

Lorsque la concentration *c* en SDS introduit est supérieure à la CMC, la forme AH⁻ du BBT interagit avec la micelle : une partie des ions AH⁻ vient se loger au cœur des micelles.

- Q28. Expliquer pourquoi la forme basique A²⁻ du BBT se loge plus difficilement que AH⁻ dans les micelles.
- Q29. En considérant le couple (AH⁻/A²⁻), écrire l'équation de la réaction de AH⁻ avec l'eau et la loi d'action des masses associée.
- Q30. Sachant que la solution utilisée est tamponnée, que peut-on en déduire pour le rapport

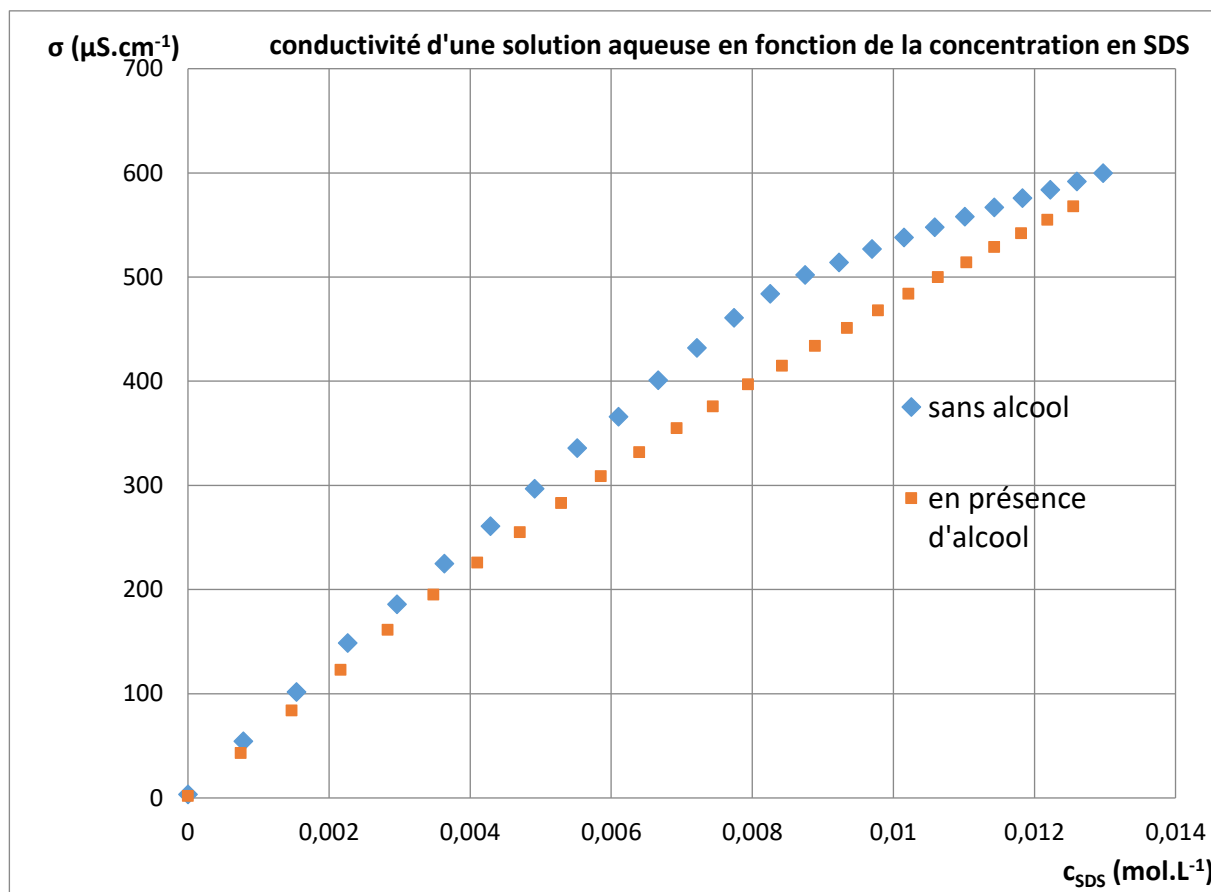
$$\frac{[A^{2-}]_{eq}}{[AH^{-}]_{eq}} ?$$

- Q31. En déduire quel déplacement d'équilibre se produit lorsque des ions AH⁻ viennent se loger au cœur des micelles et en déduire pourquoi l'absorbance à 610 nm diminue lorsque *c* augmente.

5. Etude documentaire de facteurs influençant la CMC du SDS

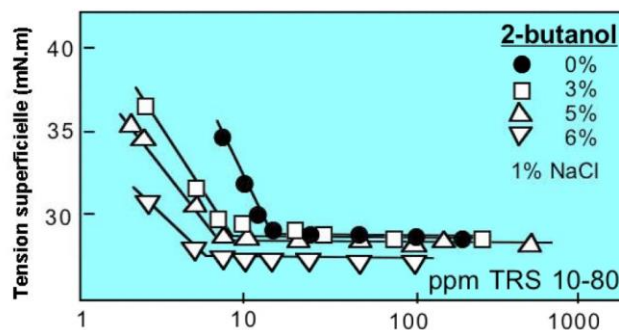
Pour des raisons pratiques, on utilise fréquemment les tensioactifs simultanément avec un alcool.

Les courbes ci-dessous représentent l'évolution de la conductivité d'une solution de SDS en fonction de sa concentration, en l'absence ou en présence de butan-2-ol.



Q32. À l'aide de ces courbes expérimentales, décrire l'influence de la présence d'un alcool sur la CMC d'un tensioactif.

La présence d'un tensioactif modifie également la tension superficielle de la solution, comme le montre le graphique présenté ci-contre (d'après Surfactifs en solution aqueuse, prof. J.L. SALAGER, Cahier FIRP n°F201A).



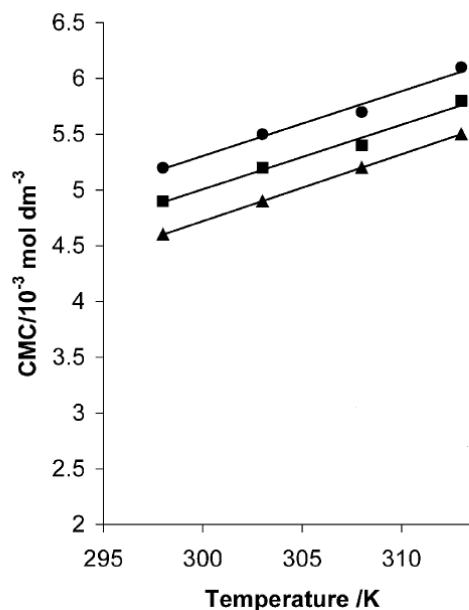
Tension superficielle en fonction de la concentration de tensioactif (WITCO TRS 10-80) pour différentes concentrations de butan-2-ol (% massique).

Q33. Montrer que les courbes expérimentales ci-dessus permettent également de retrouver l'influence de la présence d'un alcool sur la CMC d'un tensioactif.

Q34. À l'aide du graphique ci-contre, relever deux autres facteurs influençant la CMC d'un tensioactif (données tirées de P.M. SAIKIA et al./Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 216 (2003) 21-26).

CMC (SDS) against temperature at different pH:

● pH 3,9; ■ pH 3,4; ▲ pH 3,2

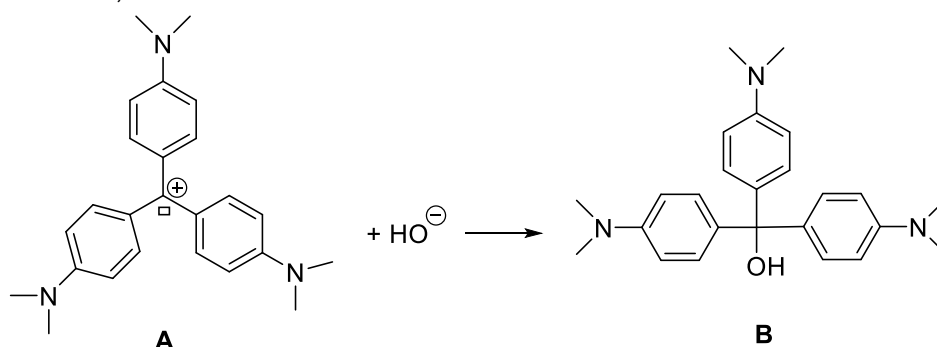


II. INFLUENCE DU SDS SUR DES VITESSES DE REACTION

Cette partie s'intéresse, au travers de deux exemples, à l'influence du SDS sur les vitesses de réactions mettant en jeu des molécules organiques. Le premier exemple met en évidence la modification de la cinétique de décoloration du violet cristallisé en présence de SDS. Le deuxième exemple présente une synthèse organique de quinoxalines réalisable, grâce au SDS, en milieu aqueux. Le SDS peut donc permettre de limiter l'utilisation de solvants organiques et s'inscrire dans le cadre de la chimie verte.

1. Cinétique d'une réaction modifiée par le SDS

Dans *The Effect of SDS Micelle on the Rate of a Reaction* (JCE vol 69, n°12, Dec 1992, p1024-1025), MARZZACCO propose d'étudier la réaction entre le cristal violet et les ions hydroxyde présentée ci-dessous, avec ou sans SDS :



La réaction entre le cristal violet et l'ion hydroxyde s'accompagne d'une décoloration de la solution initialement violette.

Q35. Expliquer cette décoloration en vous appuyant sur la théorie VSEPR et la délocalisation électronique existant au sein des molécules **A** et **B**.

Afin de déterminer la constante de vitesse de la réaction entre **A** et les ions hydroxyde, les auteurs ont versé dans trois béchers les volumes indiqués ci-dessous :

bécher	①	②	③
Solution de cristal violet ($C_{25}H_{30}N_3^+_{(aq)} + Cl^-_{(aq)}$) de concentration $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	5,0 mL	5,0 mL	2,5 mL
Eau distillée	370 mL	395 mL	397,5 mL
Solution d'hydroxyde de sodium ($Na^+_{(aq)} + HO^-_{(aq)}$) de concentration $5,0 \text{ mol.L}^{-1}$	25,0 mL	-	-

Il faut 30 s à la solution du bécher ① pour être de la même couleur que celle du bécher ③.

Q36. Sachant que la réaction est d'ordre 1 par rapport à chacun des deux réactifs **A** et HO^- , montrer que les conditions sont telles que l'on peut considérer une dégénérescence de l'ordre par rapport aux ions hydroxyde, puis établir l'expression de la concentration en **A**, notée **C**, en fonction de la concentration initiale C_0 , de la constante de vitesse apparente k_{app} et du temps t .

Q37. Après avoir défini le temps de demi-réaction $t_{1/2}$, en déduire la relation entre $t_{1/2}$ et k_{app} .

Q38. À l'aide de l'expérience décrite ci-dessus, déterminer la valeur numérique de la constante de vitesse apparente k_{app} puis celle de la constante de vitesse k .

Afin de montrer l'effet de la présence de SDS sur la réaction, les auteurs ont réalisé les mélanges suivants :

bécher	④	⑤
Solution de cristal violet ($C_{25}H_{30}N_3^+_{(aq)} + Cl^-_{(aq)}$) de concentration $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$	5,0 mL	5,0 mL
Solution de SDS de concentration $0,040 \text{ mol.L}^{-1}$	25,0 mL	-
Eau distillée	345,0 mL	370 mL
Solution d'hydroxyde de sodium ($Na^+_{(aq)} + HO^-_{(aq)}$) de concentration $5,0 \text{ mol.L}^{-1}$	25,0 mL	25,0 mL

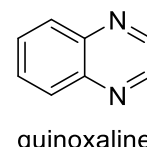
La solution du bécher ⑤ se décolore lentement tandis que celle du bécher ④ reste colorée pendant plusieurs jours (elle finit par se décolorer mais de façon non totale).

Q39. Le SDS joue-t-il ici un rôle de catalyseur ou d'inhibiteur de la réaction étudiée ?

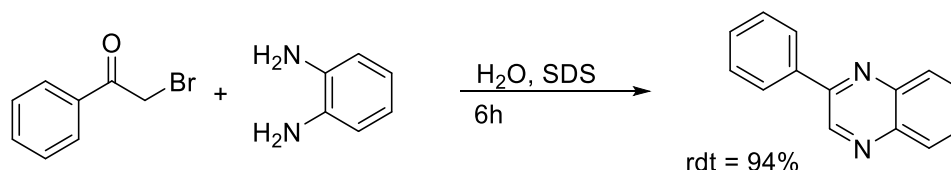
Q40. Proposer une explication à cet effet en tenant compte de la présence de micelles anioniques dans le bécher ④.

2. Utilisation du SDS comme catalyseur en chimie organique

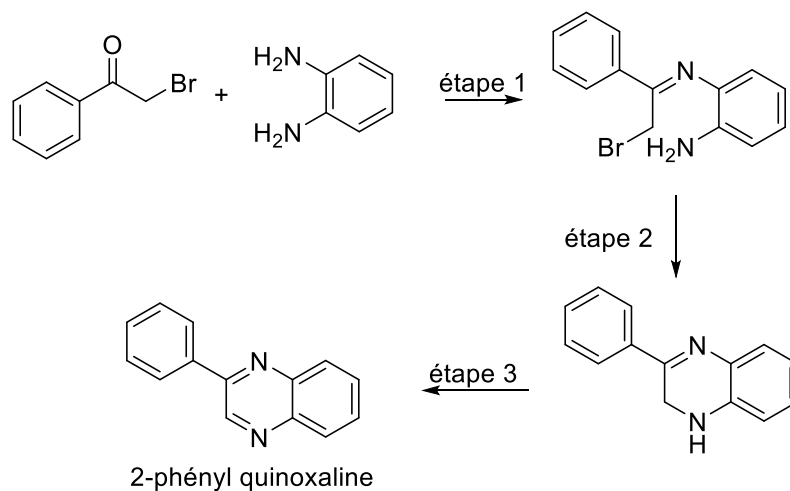
Il y a une dizaine d'années, P. GHOSH et A. MANDAL ont mis en évidence l'effet catalytique du SDS pour la synthèse de multiples dérivés de la quinoxaline, unité hétérocyclique présente dans une multitude de produits pharmaceutiques et de produits naturels bioactifs (P. Ghosh and A. Mandal, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 2013 Vol. 6, No. 1, 45-54).



Avec des conditions opératoires douces, on obtient le produit désiré avec d'excellents rendements là où, en l'absence de SDS, l'avancement de la réaction est nul :



Le schéma réactionnel proposé par les auteurs est le suivant :



- Q41. Définir ce qu'est un site électrophile et ce qu'est un site nucléophile et préciser leur(s) localisation(s) sur les réactifs de l'étape 1.
- Q42. Proposer un mécanisme pour l'étape 1.
- Q43. Expliquer brièvement à quelles catégories de réaction appartiennent les transformations des étapes 2 et 3.
- Q44. Proposer un mécanisme pour l'étape 2.
- Q45. L'étape 3 est thermodynamiquement très favorisée. Proposer une explication à la stabilité particulière de la 2-phénylquinoxaline.
- Q46. Expliquer l'absence de réaction en milieu aqueux sans SDS et proposer une explication quant à l'intérêt de la présence du SDS pour réaliser cette série de transformations.

La caractérisation spectroscopique d'un des deux réactifs de départ, la bromoacétophénone, est proposée en annexe 4 :

- Q47. Proposer une attribution des différents signaux pour les deux spectres.

ANNEXE 1 : Données de sécurité et masses molaires

SOLUTION	Classes et catégories de danger
Solution de chlorure de potassium à 0,1 mol.L ⁻¹	Pas de danger
Solution de SDS à 1,5.10 ⁻² mol.L ⁻¹	Pas de danger
Tampon phosphate	Pas de danger
Solution de SDS à 5.10 ⁻³ mol.L ⁻¹ dans tampon phosphate	Pas de danger
Solution de BBT à 150 mg.L ⁻¹ dans tampon phosphate	Pas de danger
Solution de BBT à pH = 2	Pas de danger
Solution de BBT à pH = 12	Pas de danger
Tampon pH = 7 pour étalonnage	Pas de danger
Tampon pH = 4 pour étalonnage	Pas de danger

On rappelle que le port des lunettes de sécurité est obligatoire.

Espèce chimique	Formule brute	Masse molaire
Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)	NaC ₁₂ H ₂₅ SO ₄	M=288,4 g.mol ⁻¹
Hydrogénophosphate de sodium dihydraté	Na ₂ HPO ₄ .2 H ₂ O	M=178,0 g.mol ⁻¹
Chlorure de sodium	NaCl	M=58,4 g.mol ⁻¹
Dihydrogénophosphate de sodium dihydraté	NaH ₂ PO ₄ .2 H ₂ O	M=156,0 g.mol ⁻¹
Cristal violet (ou methyl violet 10B)	C ₂₅ H ₃₀ N ₃ Cl	M=408,0 g.mol ⁻¹

ANNEXE 2 : Données physico-chimiques à 25°C

Valeurs des pK_A de quelques couples acide-base

Bleu de bromothymol BBT	Couple (AH ₂ /AH ⁻)	Couple (AH ⁻ /A ²⁻)
pK _A	considéré comme égal à 0	7,1

Acide phosphorique H ₃ PO ₄	Couple (H ₃ PO ₄ / H ₂ PO ₄ ⁻)	Couple (H ₂ PO ₄ ⁻ / HPO ₄ ²⁻)	Couple (HPO ₄ ²⁻ / PO ₄ ³⁻)
pK _A	2,1	7,2	12,3

Ordre de grandeur de la concentration micellaire critique (CMC) du SDS :

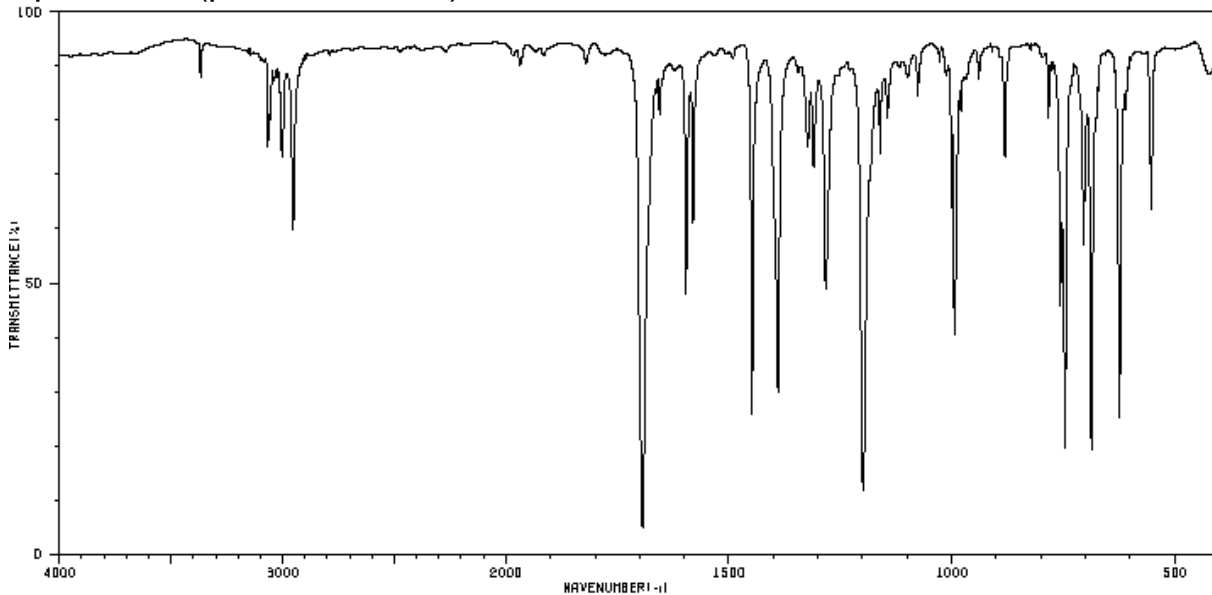
dans l'eau distillée : 10 mmol.L⁻¹

dans le tampon phosphate : 10² mg.L⁻¹

ANNEXE 4 : Caractérisation spectroscopique de la bromoacétophénone

Source: Spectral Data for Organic Compounds SDBS ; <https://sdb.sdb.aist.go.jp>

Spectre IR (pastille de KBr)

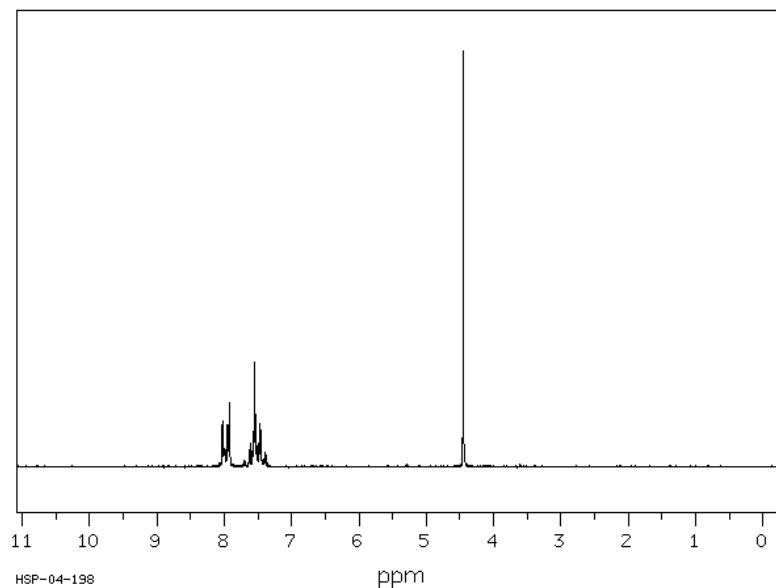


3368	84	1694	4	1323	72	1076	81	746	18
3066	72	1656	77	1310	68	1002	60	705	55
3055	79	1598	46	1263	47	993	58	687	16
3038	84	1580	58	1199	11	979	79	678	77
3027	84	1449	24	1185	66	881	70	624	24
3002	70	1441	77	1161	70	783	77	611	79
2963	67	1390	28	1145	77	767	44	553	60

BrCC(=O)c1ccccc1

Le tableau ci-dessus donne le nombre d'onde ainsi que la valeur de la transmittance associée pour chaque bande du spectre.

Spectre RMN ¹H (90 MHz, CDCl₃)



ANNEXE 5 : Tables de données spectroscopiques

ANNEXE 1	DONNÉES DE SÉCURITÉ
-----------------	----------------------------

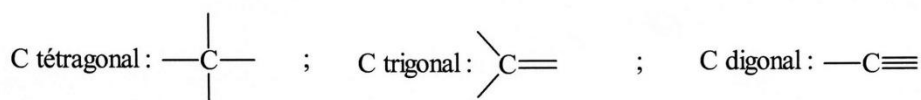
Déplacements chimiques en RMN ¹H

Protons CH ₃	δ	Protons CH ₂	δ	Protons CH	δ
Lié à un C AX ₃ :		Lié à un C AX ₃ :		Lié à un C AX ₃ :	
CH ₃ -C	0,9	CH ₂ -C	1,3	CH-C	1,5
CH ₃ -C-NH ₂ (ou NR ₂)	1,15	CH ₂ -C-NH ₂ (ou NR ₂)	1,3	CH-C-OH(ou OR)	1,6-2
CH ₃ -C-Ar	1,25	CH ₂ -C-Ar	1,6	CH-C-Cl	1,6
CH ₃ -C-OH(ou OR)	1,15-1,3	CH ₂ -C-OH(ou OR)	1,8		
En α d'une insaturation:		En α d'une insaturation:		En α d'une insaturation:	
CH ₃ -C=C	1,6	CH ₂ -C=C	2,1-2,3	CH-C=C	2,5
CH ₃ -CO-OR	2,0	CH ₂ -C≡C	2,6	CH-C≡N	2,7
CH ₃ -CO-OH	2,1	CH ₂ -CO-OR	2,2	CH-CO-OH	2,6
CH ₃ -CO-NH ₂ (ou NR ₂)	2-2,1	CH ₂ -CO-OH	2,35	CH-CO-R	2,5-2,7
CH ₃ -C=C-C=O		CH ₂ -CO-NH ₂ (ou NR ₂)	2,1-2,2	CH-Ar	3,0
CH ₃ -CO-R	2,0	CH ₂ -C=C-C=O		CH-CO-Ar	3,3
CH ₃ -Ar	2,1-2,2	CH ₂ -CO-R	2,4		
CH ₃ -CO-Ar	2,3-2,4	CH ₂ -Ar	2,4		
	2,6	CH ₂ -CO-Ar	2,7		
			2,9		
Lié à un hétéroatome		Lié à un hétéroatome		Lié à un hétéroatome	
CH ₃ -NH ₂ (ou NR ₂)	2,1-2,3	CH ₂ -NH ₂ (ou NR ₂)	2,5	CH-NH ₂ (ou NR ₂)	2,9
CH ₃ -NH-COR	2,8-2,9	CH ₂ -NH-COR	3,3	CH-NH-COR	3,8-4,1
CH ₃ -OR	3,3	CH ₂ -OR	3,4	CH-OR	3,7
CH ₃ -OH	3,4	CH ₂ -OH	3,6	CH-OH	3,9
CH ₃ -OCOR	3,7	CH ₂ -OCOR	4,2	CH-OCOR	4,8-5,1
CH ₃ -OAr	3,8	CH ₂ -OAr	4,0	CH-OAr	4,0
CH ₃ -NO ₂	4,3	CH ₂ -NO ₂	4,4	CH-NO ₂	4,5-4,7
Protons liés à un C insaturé:	δ	Protons portés par un hétéroatome. Leur position dépend considérablement du solvant et de la concentration.			
-C≡CH	1,8-3,1	OH	NH		
-C=CH-	4,5-6,0	Alcool (ROH) : 0,7-5,5	Amine aliphatique (RNH ₂ , RNH-) : 0,6-5,0		
ArH	6,5-8,2	Phénol (ArOH) : 4,5-7,1	Amine aromatique (ArNH ₂ , ArNH-) : 2,9-4,7		
	(benzène : 7,27)	Amides (-CO-NH ₂ , CO-NH-) : 6,0-8,5			
		Acide (R-CO-OH) : 10,5-12,5			
RCH=O	9,5-10,0				
ArCH=O	9,7-10,5				

Nombres d'onde en spectroscopie infrarouge

Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité
O-H alcool libre	Valence	3590-3650	F ; fine
O-H alcool lié	Valence	3200-3600	F ; large
N-H amine primaire : 2 bandes secondaire: 1 bande	Valence	3300-3500	m
N-H amide	Valence	3100-3500	F
C _{di} -H	Valence	≈ 3300	m ou f
C _{tri} -H	Valence	3030-3100	m
C _{tri} -H aromatique	Valence	3000-3100	m
C _{tet} -H	Valence	2850-2970	F
C _{tri} -H aldéhyde	Valence	2700-2900	m
O-H acide carboxylique	Valence	2500-3200	F à m ; large
C≡C	Valence	2100-2260	f
C≡N nitriles	Valence	2200-2260	F ou m
C=O anhydride	Valence	1800-1850 1740-1790	F ; 2 bandes
C=O chlorure d'acide	Valence	1790-1815	F
C=O ester	Valence	1735-1750	F
C=O aldéhyde et cétone	Valence	1700-1740	F
		abaissement de 20 à 30 cm ⁻¹ si conjugaison	
C=O acide carboxylique	Valence	1700-1725	F
C=O amide	Valence	1650-1700	F
C=C	Valence	1620-1690	m
C=C aromatique	Valence	1450-1600	Variable ; 3 ou 4 bandes
N=O (de -NO ₂) conjugué	Valence	1500-1550 1290-1360	F ; 2 bandes
N=N	Valence	1400-1500	f ; parfois invisible
C=N	Valence	1640-1690	F ou m
N-H amine ou amide	<i>Déformation</i>	1560-1640	F ou m
C _{tet} -H	<i>Déformation</i>	1430-1470	F
C _{tet} -H (CH ₃)	<i>Déformation</i>	1370-1390	F ; 2 bandes
O-H	<i>Déformation</i>	1260-1410	F
C _{tet} -O-C _{tet} (étheroxydes)	Valence	1070-1150	F
C _{tet} -OH (alcools)	Valence	1010-1200	
C _{tet} -O-C _{tri} (esters)	Valence	1050-1300	F ; 1 ou 2 bandes
C _{tri} -O-C _{tri} (anhydrides)			
C-N	Valence	1020-1220	m
C-C	Valence	1000-1250	F
C _{tri} -H de -HC=CH- (<i>E</i>)	<i>Déformation</i>	960-970	F
(<i>Z</i>)	<i>Déformation</i>	670-730	m
C _{tri} -H aromatique monosubstitué	<i>Déformation</i>	730-770 et 680-720	F ; 2 bandes
C _{tri} -H aromatique o-disubstitué	<i>Déformation</i>	735-770	F
m-disubstitué	<i>Déformation</i>	750-800 et 680-720	F et m ; 2 bandes
p-disubstitué	<i>Déformation</i>	800-860	F
C _{tet} -Cl	Valence	600-800	F
C _{tet} -Br	Valence	500-750	F
C _{tet} -I	Valence	≈ 500	F

F : fort ; m : moyen ;
f : faible



ANNEXE 6 : Tableaux de valeurs et résultats à compléter
n° poste :

Détermination de la CMC du SDS par conductimétrie :

Mesure de la conductivité et calcul des valeurs de concentrations :

Volume d'eau distillée versé	0	3,00	6,00	9,00	12,0	15,0	18,0	21,0
σ (mS.cm ⁻¹)								
C (mol.L ⁻¹)								

Volume d'eau distillée versé	24,0	27,0	30,0	34,0	38,0	42,0	46,0
σ (mS.cm ⁻¹)							
C (mol.L ⁻¹)							

Q6. Estimation de la CMC du SDS dans l'eau distillée :

Détermination de la CMC du SDS par spectrophotométrie :

Mesure du pH de la solution tampon :

Mesure de l'absorbance des solutions 1 à 7

solution	1	2	3	4	5	6	7
A							

Q20. Estimation de la CMC du SDS dans le tampon phosphate :

Q21. Spectres d'absorption UVB-visible :

RAPPORT DU JURY DE TP DE CHIMIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,27 / 20**
- Meilleure note : **18,50 / 20**
- Note la plus basse : **04,60 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **42,9%**
- Moyenne des candidats admis : **10,98 / 20**

L'épreuve de travaux pratiques de chimie de cette année s'intéresse aux tensioactifs et aux micelles.

Le sujet se compose de deux parties.

La première s'attache à la détermination expérimentale de la concentration micellaire critique (CMC) d'un tensioactif dans deux milieux différents (eau distillée ou tampon phosphate) en utilisant la conductimétrie ou la spectrophotométrie.

La deuxième partie propose une étude de l'influence de ce tensioactif sur les vitesses de réactions en chimie organique.

Les compétences expérimentales apparaissent dans différentes sous-parties de la partie I du sujet :

- Partie I. 1) détermination de la CMC d'un tensioactif par conductimétrie :

Étalonnage d'un conductimètre, préparation d'un montage pour ajouter de l'eau distillée dans un volume donné d'une solution, mesure de la conductivité d'une solution.

- Partie I. 3) détermination de la CMC d'un tensioactif par spectrophotométrie :

Étalonnage d'un pH-mètre, mesure du pH d'une solution, réalisation d'une gamme de solutions de concentration connue, mesure d'une absorbance à une longueur d'onde donnée à l'aide d'un spectrophotomètre.

- Partie I. 4) propriétés acido-basiques du BBT en milieu micellaire :

Réalisation de spectres d'absorption UV-visible à l'aide d'un spectrophotomètre à balayage. Ces questions à caractère expérimental sont précédées ou suivies de questions dont le but est l'analyse, la modélisation et l'exploitation des données obtenues (par exemple, les questions 3 à 6 et 18 à 22).

Les autres questions ont pour but de permettre l'interprétation des résultats expérimentaux :

- Dans la partie I. 2) structure d'un tensioactif et formation de micelles : interprétation de la rupture de pente observée en conductimétrie.
- Dans la partie I. 4) propriétés acido-basiques du BBT en milieu micellaire : interprétation de la couleur des solutions et de la rupture de pente observée en spectrophotométrie.

Enfin, en guise de conclusion de la première partie étudiant la CMC, la sous-partie I. 5) permet la mise en évidence, à l'aide d'études documentaires, de différents facteurs influençant la CMC.

La seconde partie du sujet s'intéresse à l'influence de la présence du tensioactif lors de réactions en chimie organique :

- une étude cinétique permettant la mise en évidence d'un effet inhibiteur du tensioactif :

théorie VSPER, délocalisation électronique, loi cinétique lors d'une dégénérescence de l'ordre, temps de demi-réaction.

- une étude de l'utilisation du tensioactif en tant que catalyseur en chimie organique : électrophilie et nucléophilie, mécanismes réactionnels, catégories de réactions, aromaticité, spectroscopies IR et RMN du proton.

Le jury rappelle que la note finale prend en compte les compétences expérimentales (manipulations et exploitations des résultats expérimentaux) et les réponses aux questions concernant les notions théoriques.

Le soin apporté aux copies est inégal, notamment en ce qui concerne la rédaction ; le jury rappelle qu'une copie de concours ne peut se résumer à un cahier de laboratoire ou à une succession de réponses en style télégraphique. En outre, le jury rappelle également que l'épreuve est longue et demande une bonne gestion du temps : par exemple, même si vérifier systématiquement l'homogénéité des formules littérales utilisées est un bon réflexe, faire apparaître cette vérification sur la copie dans les cas très simples n'est pas une nécessité.

Remarques concernant les compétences expérimentales

Le port des lunettes de sécurité est requis pendant toute la durée de l'épreuve et les candidats et candidates doivent manipuler debout. Des marchepieds sont à disposition si nécessaire ; il n'est pas acceptable de manipuler en étant à genoux sur un tabouret tournant.

Le jury rappelle que lorsqu'un appel à l'examineur est demandé explicitement dans le sujet, les candidats et candidates peuvent appeler au moment qu'ils et elles jugent opportun, mais ne peuvent se soustraire à cet appel.

De manière générale, le pipetage d'une solution ne doit pas s'effectuer directement dans le flacon.

- Partie I. 1) détermination de la CMC d'un tensioactif par conductimétrie :

Utilisation d'un conductimètre : il est nécessaire le cas échéant d'enlever le capuchon plastique de protection de la cellule, puis de le remettre à la fin des manipulations. La cellule doit être rincée à l'eau distillée, puis séchée délicatement avant et après utilisation.

Étalonnage : la notice doit être suivie point par point, la température relevée et la table de conductivité lue attentivement, notamment en ce qui concerne les unités.

Préparation d'un montage pour ajout d'eau distillée dans un volume donné d'une solution : l'utilisation d'une burette graduée était judicieuse.

- Partie I. 3) détermination de la CMC d'un tensioactif par spectrophotométrie :

Étalonnage et utilisation d'un pH-mètre : il est nécessaire le cas échéant d'enlever le capuchon plastique de protection de l'électrode de verre, puis de le remettre à la fin des manipulations. L'électrode doit être rincée à l'eau distillée, puis séchée délicatement avant et après utilisation. Elle ne doit pas être laissée à tremper dans une solution ou à l'air libre trop longtemps après manipulation.

Réalisation d'une gamme de solutions de concentrations connues : une fiole jaugée doit être remplie en deux fois avec une homogénéisation intermédiaire.

Mesure d'une absorbance à une longueur d'onde donnée à l'aide d'un spectrophotomètre : le choix de la solution de référence doit être réfléchi. En particulier, la référence n'était pas ici la solution de concentration nulle en tensioactif, mais le tampon phosphate. La mesure d'une valeur négative d'absorbance aurait dû faire s'interroger les candidats et candidates. En outre, les cuves doivent être suffisamment remplies afin d'éviter les erreurs de mesure.

- Partie I. 4) propriétés acido-basiques du BBT en milieu micellaire :

Réalisation de spectres d'absorption UV-visible à l'aide d'un spectrophotomètre à balayage : l'utilisation d'une solution de référence est également nécessaire.

Remarques concernant les compétences numériques et de modélisation

Le tracé de graphiques n'a pas posé de problème en général. Cependant, l'utilisation de l'outil informatique n'est pas suffisamment maîtrisée en ce qui concerne la modélisation des courbes obtenues, notamment lorsque la modélisation doit se faire par parties.

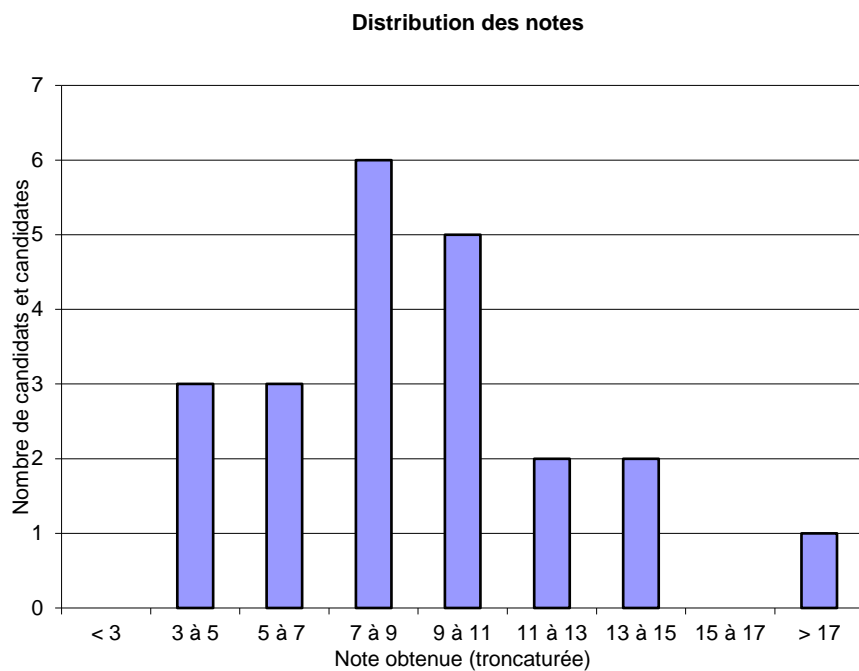
Réponses aux questions posées :

Le jury indique les précisions suivantes :

- Q2 : le nombre de chiffres significatifs attendus est de trois (1,5 est différent de 1,50).
- Q7 : les notions de parties hydrophile et hydrophobe sont restées trop superficiellement décrites.
- Q8 : les réponses sont souvent incomplètes : la réponse ne peut se limiter à « l'interaction hydrophobe ».
- Q11 : peu de candidats ont traité correctement cette question.
- Q12 à Q14 : le comportement de la solution en milieu micellaire, et notamment la liste des espèces conductrices, a posé des problèmes.
- Q15 : une définition précise d'une solution tampon était attendue.
- Q26 : la question a été particulièrement bien traitée.
- Q30 : une solution tamponnée n'implique pas forcément des concentrations égales en acide et base conjugués.
- Q36 à Q40 : les questions concernant cette étude cinétique somme toute classique ont été peu traitées.
- Q41 à Q47 : de même, peu de candidats et candidates ont traité cette partie.
- Q42 : une seule copie propose un mécanisme plausible, alors qu'il s'agit pourtant d'une réaction classique de condensation d'une amine sur une cétone.

Il est en outre regrettable que les questions nécessitant une lecture et interprétation de documents (influence de facteurs sur la CMC ou étude cinétique) n'aient pas été davantage exploitées par les candidats et candidates.

3. Distribution des notes des candidats et candidates ayant passé l'épreuve :



4. Répartition des taux de réponses et des pourcentages de bonnes réponses

	Partie I.1						Partie I.2			
N° question	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
% réponses	82	95	95	86	64	73	100	100	86	68
% bonnes réponses	50	75	67	74	38	31	88	51	43	39
	Partie I.2				Partie I.3					
N° question	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
% réponses	64	68	50	55	100	95	86	95	59	73
% bonnes réponses	32	62	55	24	30	44	57	49	40	35
	Partie I.4									
N° question	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
% réponses	45	45	77	59	59	86	41	73	50	50
% bonnes réponses	44	43	71	17	38	99	29	65	75	36
	Partie I.4	Partie I.5			Partie II.1					
N° question	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
% réponses	36	59	32	55	50	32	32	14	32	23
% bonnes réponses	50	51	18	71	47	40	44	15	61	10

	Partie II.2						
N° question	41	42	43	44	45	46	47
% réponses	55	36	36	18	23	14	23
% bonnes réponses	44	22	56	15	31	25	43

ÉPREUVE ORALE DE LEÇON

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

SUJETS

BIOCHIMIE	BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE	MICROBIOLOGIE
Organisation des microdomaines lipidiques	Neuroendocrinologie de la reproduction	Les biofilms bactériens
Les acides aminés aromatiques	Les fonctions du foie	Du parasitisme à la symbiose de leurs microorganismes, les humains sont devenus des holobiontes
Régulation allostérique de la glycolyse	Sécrétion et fonctions de l'insuline	La reproduction des microorganismes
La pyruvate déshydrogénase : structure et régulation	La thermorégulation	Les mécanismes d'échappement des agents pathogènes aux mécanismes de défense de leur hôte.
Le coenzyme A, carrefour métabolique	Phosphorylation et déphosphorylation dans la transduction du signal	Adaptation à la vie intra cellulaire
Voies anaérobiques du cycle de Krebs	Les sécrétions exocrines	Pathogènes aéroportés
	Le vieillissement cellulaire	Les bases de l'évolution chez les bactéries
	L'absorption intestinale	

RAPPORT DU JURY DE LEÇONS

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **12,24 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,00 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **71,4 %**
- Moyenne des candidats admis : **14,36 / 20**

Commentaires généraux

L'épreuve de leçon est avant tout une épreuve de synthèse de différentes données provenant éventuellement de plusieurs domaines. Il s'agit d'une épreuve didactique au niveau le plus élevé des connaissances actuelles dans l'une des trois disciplines explicitement indiquée sur le sujet (« Biochimie », « Microbiologie » ou « Biologie Cellulaire et Physiologie »). Il conviendra de respecter ce champ disciplinaire dans le cadre de la leçon, même si celle-ci pourrait être traitée dans d'autres disciplines.

L'épreuve nécessite un travail de fond durant toute la préparation au concours permettant au candidat de présenter très clairement, une leçon structurée et illustrée, qui met en avant les connaissances actuelles dans un domaine donné. Le candidat doit donc faire l'effort d'un vrai travail de synthèse et d'organisation pédagogique. Même si la leçon s'intègre prioritairement dans une discipline, celle-ci doit être traitée à toutes les échelles possibles, de la molécule à l'organisme dans son environnement, qui doit lui aussi être pris en compte si le sujet proposé le permet. Il est fondamental de ne pas restreindre l'exposé à une succession de mécanismes moléculaires en oubliant ou en négligeant de les replacer dans un contexte plus général des organismes vivants, et leur environnement. La leçon doit à l'inverse montrer une intégration des relations structure-fonction jusqu'à l'échelle de la molécule et ne pas rester aux niveaux supérieurs d'organisation, même dans le cadre de leçon de physiologie (et biologie cellulaire) ou de microbiologie. La problématique du sujet doit être cernée, les idées hiérarchisées et le choix de concepts et notions à présenter est indispensable dans le temps évidemment limité de la leçon.

À chaque fois que cela est possible, la présentation des concepts, notions ou modèles, devrait pouvoir s'appuyer sur une démarche de démonstration fondée sur des observations biologiques notamment d'origine expérimentale. Le candidat peut en particulier faire appel à des expériences historiques pour introduire son propos.

Une bonne connaissance des ouvrages mis à disposition est un atout majeur afin de pouvoir se référer à une bibliographie permettant d'être efficace au cours de la préparation. Il est en effet illusoire d'imaginer réaliser une synthèse d'informations issues d'un nombre trop important d'ouvrages en quatre heures de préparation.

Remarques sur la présentation

Le candidat dispose de 40 minutes sans interruption pour présenter sa leçon, temps suivi de 20 minutes d'entretien depuis cette session 2023.

Le jury rappelle que l'introduction doit permettre de cerner le sujet et d'apporter quelques notions permettant de dégager la problématique centrale. Le jury est donc particulièrement attentif à la

contextualisation de la leçon au cours de l'introduction et les approches historiques pour montrer l'évolution des concepts scientifiques sont très appréciées quand cela est pertinent. De même, le jury apprécie que les candidats commencent leur démonstration avec des résultats expérimentaux qui amèneront la démonstration ultérieure.

La leçon, pour être pédagogique, doit être structurée en parties qui sont amenées par des questions posées lors de l'introduction et rappelées lors des transitions entre les parties. Il est important pour la compréhension de la leçon que le plan reste apparent tout au long de l'exposé (sur le tableau ou dans un bandeau sur les diapositives).

Enfin, la conclusion ne peut être réduite à un simple résumé des notions évoquées au cours de la leçon. Elle doit tirer avantage d'une démarche d'ouverture sur des projets de recherche, des enjeux éthiques, économiques, sociétaux, de santé publique et/ou des applications biotechnologiques ou biomédicales.

En ce qui concerne les supports (images et photos), le jury rappelle aux candidats que la possibilité de prendre des photos ne doit pas faire oublier qu'il est primordial d'effectuer des choix pertinents pour les supports utilisés. Toute illustration présentée doit être très lisible, vraiment exploitée et expliquée pour étayer la démonstration. Le jury apprécie tout particulièrement la construction de documents didactiques personnels (schémas, tableaux, organigrammes, cartes heuristiques...), qui témoignent de l'appropriation, de la maîtrise du sujet et de l'esprit de synthèse. Le tableau noir doit rester avant tout un support dynamique pour étayer la démonstration (schémas explicatifs, équations, schémas ou tableaux de synthèse...).

Rappelons aussi que doivent figurer sur les diapositives numérotées, les illustrations supportant le propos et un texte de longueur raisonnable permettant au candidat de présenter des notions et concepts qu'il souhaite développer dans sa leçon. Des diapositives support d'un texte lu dans son intégralité n'ont aucune valeur pédagogique et affranchissent le candidat d'une réelle posture communicante avec l'auditoire. Le jury regrette également que certains diaporamas soient presque exclusivement constitués de clichés photographiques, souvent illisibles (flous, de trop petite dimension, pas assez contrastés donc peu visibles), s'affranchissant d'un plan et support de commentaires généralement lus et souvent mal structurés. Le tableau pourrait être davantage utilisé en cours d'exposé (illustrations, schémas de synthèse, construction de tableau, courbes, croquis...).

Dans le respect du droit d'auteur, il est attendu que la source de chaque illustration soit mentionnée. Cependant, au regard des contraintes de temps de préparation, il est toléré que la liste des ouvrages utilisés soit indiquée au terme de la présentation.

Le jury a apprécié les grandes qualités de communication de certains candidats : respect du temps imparti, structuration de l'exposé, dynamisme et posture enseignante, qualité des supports, du plan, des conclusions partielles, des transitions, l'ensemble apportant de la légitimité au propos. Globalement, la communication orale a été de qualité pour ce qui concerne la syntaxe et le vocabulaire choisi ; le jury a apprécié les candidats capables de se détacher de leurs notes pendant leur présentation, comme celles et ceux qui s'attachaient à regarder le jury auquel ils ou elles s'adressaient.

Remarques sur l'entretien

Le jury, au cours d'un entretien de 20 minutes, demande au candidat :

- d'éclaircir, d'approfondir et de compléter certains points de la leçon ;
- d'élargir le sujet dans des domaines connexes ou non abordés.
- de répondre à des questions spécifiques aux disciplines non abordées durant la leçon

Pour cet entretien, le jury attend un niveau d'expression orale en rapport avec la posture de futur.e professeur.e agrégé.e de Biochimie – Génie Biologique, tant au niveau du vocabulaire scientifique que de la pratique de la langue française.

Le plus souvent, les candidats ont fait preuve de qualité d'écoute, de réactivité et de probité intellectuelle. Une bonne maîtrise des fondamentaux technologiques et scientifiques, une approche réfléchie sont des atouts pour compenser, du moins partiellement, une prestation orale jugée perfectible.

Lors de l'entretien, il est attendu que le candidat fasse preuve de bon sens, de recul par rapport au sujet traité. Pour cela, il doit posséder des connaissances qui ne se limitent pas au cadre parfois trop restreint de son étude.

Le jury a apprécié que certains candidats fournissent des réponses très argumentées, étayées par des schémas ou dessins. Au contraire, l'échange n'a pas été véritablement possible avec certains qui n'ont pas adopté une posture réflexive ou qui ont formulé des réponses trop laconiques. Inversement, il n'est pas conseillé aux candidats d'étendre exagérément leur temps de réponse afin de réduire le nombre de questions posées : chaque membre du jury apprécie d'avoir le temps de poser quelques questions.

Le jury rappelle que l'entretien n'est pas qu'une succession de réponses ponctuelles aux questions posées mais, le plus souvent l'occasion de réfléchir à voix haute en prolongeant l'échange, par une communication véritable entre scientifiques biologistes.

Rapport sur les leçons de Biochimie

Six leçons de biochimie ont été proposées pour cet opus 2023 de l'agrégation externe BGB. Si la majorité des leçons a été traitée avec sérieux et dispensée par des candidats adoptant la posture digne d'un professeur titulaire d'une agrégation, d'autres ont fait preuve de peu d'intérêt pour la discipline donnant parfois l'impression de s'être ennuyé au cours de la préparation et de la présentation. Une leçon se doit d'être vivante et de capter et captiver l'attention de l'auditoire ; pour ce faire, la voix de l'orateur se doit d'être, autant que faire se peut, forte et claire. Il est également important que l'orateur regarde les auditeurs tour à tour et ne fixe pas systématiquement la même personne, ce qui peut indisposer. Nombre de candidats ont fait preuve d'originalité tant sur l'articulation du plan de la leçon que sur la forme, et sont allés dans le fond du sujet traité. Une ouverture, sur le plan pathologique en général, a été proposée par certains candidats de manière à ouvrir le sujet et à ne pas rester sur des éléments communs attendus. La biochimie fait appel à des structures chimiques et des réactions enzymatiques et non enzymatiques, il est donc incompréhensible que certaines leçons n'en aient pas contenues ou que les candidats ne connaissent pas le plus élémentaire de ces concepts. Nous pouvons également regretter le manque de culture scientifique générale, un professeur agrégé doit connaître l'histoire de sa discipline, les grandes dates qui ont jalonné la trajectoire des connaissances et les grands noms qui y sont associés. Une leçon ne doit pas être sèche et monotone et se limiter à un déroulé de faits. Il est appréciable de ressortir quand c'est opportun une anecdote, une observation fortuite, une erreur d'expérimentation ou d'interprétation, qui sont souvent les prémices aux grandes avancées scientifiques. L'agrégé doit vivre avec son époque et être au fait des technologies de pointes, il doit en comprendre le principe et expliquer en quoi ces technologies apportent un progrès réel en science au regard des technologies précédentes. Une leçon de biochimie ne dispense pas d'élargir

le propos à d'autres disciplines scientifiques, il fait éviter l'écueil du cloisonnement. Des erreurs méthodologiques et certaines inepties ont été relevées pour quelques-uns d'entre eux. Le jury recommande aux candidats de s'entraîner à l'utilisation des ouvrages bibliographiques et de faire un test de projection avant l'arrivée du jury en salle pour juger de la qualité et de la bonne visibilité du diaporama.

Rapport sur les leçons de Microbiologie

La microbiologie, au sens large du terme, nécessite des connaissances dans des domaines classiques et variés tels que la biochimie, la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, la génétique, l'immunologie, la physiologie, afin de comprendre d'une façon intégrée, les interactions établies entre les microorganismes entre eux, les microorganismes avec l'environnement et les microorganismes avec leurs hôtes infectés.

Les sujets proposés en 2023 étaient classiques et sans difficulté majeure pour les candidats ayant préparé l'épreuve de microbiologie de façon intégrée, comme mentionné ci-dessus. Il était donc important de bien définir le sujet en introduction, de le replacer dans le contexte, afin d'en définir les contours, la problématique, puis de traiter chacune des parties de façon intégrée et sans oublier de s'appuyer sur des données expérimentales moléculaires et cellulaires, avant de conclure et d'élargir le sujet. Il est important de mentionner que la microbiologie est généralement richement illustrée dans les livres mis à disposition et il est donc important d'illustrer, autant que possible, par des schémas, des tableaux ou des photos (de bonne qualité) les démonstrations expérimentales et les concepts mentionnés.

La seule difficulté majeure rencontrée a été de ne pas savoir définir l'holobionte (défini comme l'assemblage d'un hôte et des autres espèces vivantes vivant en symbiose dans ou sur cet hôte et formant avec lui, une unité écologique).

Certains candidats ont excellé dans l'exercice proposé, avec un exposé dynamique, captivant, original, richement illustré. D'autres se sont contentés d'un exposé plus conventionnel.

Rapport sur les leçons de Biologie Cellulaire et Physiologie

Les sujets de « biologie cellulaire et physiologie » concernent un large champ notionnel, de la molécule à l'organisme dans son environnement.

Leur libellé, souvent très général (comme par exemple « Les fonctions du foie») impose aux candidats de proposer un plan construit sur des concepts plutôt que de rechercher une exhaustivité dans les notions.

Cette année le jury a été impressionné par deux leçons dont « les sécrétions exocrines » qui demandaient une bonne connaissance des ouvrages à disposition ainsi qu'un grand travail de réflexion et de synthèse en un temps très court de préparation.

Les sujets de biologie cellulaire et physiologie doivent être abordés à toutes les échelles possibles (du moléculaire à l'organisme) et étayés par des mécanismes physico-chimiques replacés dans leur contexte physiologique. Les complémentarités et coopérations entre systèmes et/ou organes sont à considérer ainsi que les interactions de l'organisme avec l'environnement, si la leçon s'y prête.

Dans certains cas, le jury a regretté l'absence de traitement de parties importantes de certaines leçons comme par exemple lors de la leçon « La thermorégulation ». Le jury attendait une description de l'implication du tissu adipeux brun, de la fonction mitochondriale et plus spécifiquement de la protéine thermogénine ou UCP-1.

Pour les illustrations, certains candidats ont trop souvent tendance à utiliser des schémas illisibles ou non appropriés issus de livres alors que d'autres candidats ont saisi l'occasion de créer leurs propres schémas qu'ils ont complétés au cours de la leçon, démontrant ainsi des compétences pédagogiques adaptées.

Le jury souhaite féliciter certains candidats qui ont réussi à proposer des exposés synthétiques, construits à partir d'une problématique pertinente et des documents sur lesquels ils ont su appuyer leurs démonstrations.

ÉPREUVE ORALE D'ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

SUJETS

Eviter aux cyanobactéries de chauffer !	Zhan J, Steglich C, Scholtz I, Hess W, Kirilovsky D Inverse regulation of light harvesting and photoprotection is mediated by a 3'-end-derived sRNA in cyanobacteria <i>The plant cell</i> , 2021, vol. 33, p. 358-380
	Huang CY, Wang H, Hu P, Hamby R, Jin H Small RNAs- Big Players in Plant-Microbe Interactions <i>Cell Host Microbe</i> , 2019, vol. 26, p. 173-182
De l'intérêt des animaux venimeux !	Xiong X, Blakely A, Kim J, Menting J, Schäfer I, Schubert H, Agrawal R, Gutmann T, Delaine C, Zhang Y, Artik G, Merriman A, Eckert D, Lawrence M, Coksun O, Fischer S, Forbes B, Safavi- Henami H, Hill C, Chou D Symmetric and asymmetric receptor conformation continuum induced by a new insulin <i>Nature Chemical Biology</i> , 2022, vol 18, p. 511-519
	Jin AH, Muttenhaler M, Dutertre S, Himaya S, Kaas Q, Craik D, Lewis R, Alewood P Conotoxins: Chemistry and Biology <i>Chemical Reviews</i> , 2019, vol 119, p. 11510-11549
Combattre les cellules souches cancéreuses !	Prost S, Relouzat F, Spentchian M, Ouzegdouh Y, Saliba J, Massonet G, Beressi JP, Verhoeyen E, Raggiueneau V, Maneglier B, Castaigne S, Chomienne C, Chrétien S, Rousselot P, Leboulch P Erosion of the chronic myeloid leukaemia stem cell pool by PPAR γ agonists <i>Nature</i> , 2015, vol. 525, p. 380-383
	Battle E, Clevers H Cancer stem cells revisited <i>Nature Medicine</i> , 2017, vol. 23, p. 1124-1134
Quand mutation rime avec affinité !	Li L, Liao H, Meng Y..., Huang N, Qi J, Gao G Structural basis of human ACE2 higher binding affinity to currently circulating Omicron SARS-CoV-2 sub-variants BA.2 and BA.1.1 <i>Cell</i> , 2022, vol. 185, p. 2952-2960
	Scialo F, Daniele A, Amato F, Pastore L, Matera MG, Cazzola M, Castaldo G, Bianco A ACE2: The Major Cell Entry Receptor for SARS-CoV-2 <i>Lung</i> , 2020, vol. 198, p. 867-877

Des chimères moléculaires !	Xu K, Gao P, Liu S ... Dai L, Wang P, Gao G Protective prototype-Beta and Delta-Omicron chimeric RBD-dimer vaccines against SARS-CoV-2 <i>Cell</i> , 2022, vol. 185, p. 2265-2278
	Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, Zhang W Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines <i>International Journal of Biological Sciences</i> , 2021, vol. 17(1), p. 8-19
Une dégradation tout en contrôle !	Morreale F, Kleine S, Leodolter J, ..., Meinhart A, Kaiser M, Clausen T BacPROTACs mediate targeted protein degradation in bacteria <i>Cell</i> , 2022, vol. 185, p. 2338-2353
	Békés M, Langley D, Crews C PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue <i>Nature reviews</i> , 2022, vol. 21, p. 181-200
De nouveaux taxis moléculaires !	Banskota S, Raguram A, Suh S, ..., Musunuru K, Palczewski K, Liu D Engineered virus-like particles for efficient <i>in vivo</i> delivery of therapeutic proteins <i>Cell</i> , 2022, vol. 185, p. 250-265
	Nooraei S, Bahrulolum H, Hoseini Z, Katalani C, Hajizade A, Easton A, Ahmadian G Virus-like particles : preparation, immunogenicity and their roles as nanovaccines and drug nanocarriers <i>Journal of Nanobiotechnology</i> , 2021, vol. 19, art. 59, p. 1-27
Vous avez dit « stable » !!	Ren C, Wen X, Mencius J, Qhan S An enzyme-based biosensor for monitoring and engineering protein stability in vivo <i>PNAS</i> , 2021, vol. 118(13), p. 1-10
	Wang W, Roberts C Protein aggregation-Mechanisms, detection and control <i>International Journal of Pharmaceutics</i> , 2018, vol. 550, p. 251-268
CRISPRi à la recherche de l'essentiel.	Rousset F, Cui L, Siouve E, Becavin C, Depardieu F, Bikard D Genome-wide CRISPR-dCas9 screens in <i>E.coli</i> identify essential genes and phage host factors <i>PLoS Genetics</i> , 2018, vol. 14(11): e1007749, p. 1-28
	Rousset F, Bikard D CRISPR screens in the era of microbiomes <i>Current Opinion in Microbiology</i> , 2020, vol. 57, p. 70-77
Cultiver l'incultivable.	Cross K, Campbell J, Balachandran M, Campbell A, Cooper C, Griffen A, Heaton M, Joshi S, Klingeman D, Leys E, Yang Z, Parks J, Podar M Targeted isolation and cultivation of uncultivated bacteria by reverse genomics <i>Nature Biotechnology</i> , 2019, vol 37, p. 1314-1321
	Thrash J Towards culturing the microbe of your choice <i>Environmental Microbiology Reports</i> , 2020, vol. 13(1), p. 36-41 (p. 1-6 ici)
Microbiote, sevrage et immunité.	Al Nabhani Z, Dulauroy S, Marques R, ..., Bérard M, Cerf-Bensussan N, Eberl G A Weaning Reaction to Microbiota Is Required for Resistance to Immunopathologies in the Adult <i>Immunity</i> , 2019, vol. 50, p. 1276-1288

Probiotiques contre additifs alimentaires	Al Nabhani Z, Eberl G Imprinting of the immune system by the microbiota early in life <i>Mucosal Immunology</i> , 2020, vol. 13, p. 183-189
	Daniel N, Gewirtz A, Chassaing B <i>Akkermansia muciniphila</i> counteracts the deleterious effects of dietary emulsifiers on microbiota and host metabolism <i>Gut Microbiota</i> , 2023, vol. 72, p. 906-917
	Koh A, Bäckhed F From Association to Causality: the Role of the Gut Microbiota and its Functional Products on Host Metabolism <i>Molecular Cell</i> , 2020, vol. 78, p. 584-596
Un noyau pour les virus ?	Mendoza S, Nieweglowska E, Govindarajan S, Leon L, Berry J, Tiwari A, Chaikerasitak V, Pogliano J, Agard D, Bondy-Denomy J A bacteriophage nucleus-like compartment shields DNA from CRISPR nucleases <i>Nature</i> , 2020, vol. 577, p. 244-248
	Malone L, Birkholz N, Fineran P Conquering CRISPR: how phages overcome bacterial adaptive immunity <i>Current Opinion in Biotechnology</i> , 2021, vol.68, p. 30-36
<i>Vibrio cholerae</i> et le mystère des plasmides disparus.	Jaskolska M, Adams D, Blokesch M Two defence systems eliminate plasmids from seventh pandemic <i>Vibrio cholerae</i> . <i>Nature</i> , 2022, vol. 604, p. 323-329
	Bernheim A, Sorek R The pan-immune system of bacteria: antiviral defence as a community resource <i>Nature Reviews</i> , 2020, vol. 18, p. 113-119
ATPase et Parkinson.	Fuji T, Nagamori S, Wiriyasermkul P, Zheng S, Yago A, Shimizu T, Tabuchi Y, Okumura T, Fujii T, Takeshima H, Sakai H Parkinson's disease-associated ATP13A2/PARK9 functions as a lysosomal H ⁺ , K ⁺ -ATPase <i>Nature Communication</i> , 2023, vol 14, art. 2174, p. 1-11
	Yang X, Xu Y Mutations in the ATP13A2 Gene and Parkinsonism: A Preliminary Review <i>BioMed Research International</i> , 2014, art. 371256, p. 1-9
Autophagie et résistance.	Oh SJ, Lim JY, Son MK, Ahn JH, Song KH, Lee HJ, Kim S, Cho EH, Chung JY, Cho H, Kim H, Kim JH, Park J, Choi J, Hwang SW, Kim TW TRPV1 inhibition overcomes cisplatin resistance by blocking autophagy-mediated hyperactivation of EGFR signaling pathway <i>Nature Communications</i> , 2023, vol. 14, art. 2691, p. 1-17
	Oh SJ, Lee J, Kim Y, Song KH, Cho EH, Kim M, Jung H, Kim TW Far Beyond Cancer Immunotherapy: Reversion of Multi-Malignant Phenotypes of Immunotherapeutic-Resistant Cancer by Targeting the NANOG Signaling Axis <i>Immune Network.</i> , 2020, vol. 20(1)e7, p. 1-11
Contrôle de la différenciation.	Lackner A, Müller M, Gampert M, Stoeva D, Langmann O, Papuchova H, Roitinger E, Dürnberger G, Imre R, Mechtler K, Latos PA The Fgf/Erf/NCoR1/2 repressive axis controls trophoblast cell fate <i>Nature Communications</i> , 2023, vol. 14, art. 2559, p. 1-20
	Dorard C, Vucak G, Baccharini M Deciphering the RAS/ERK pathway in vivo <i>Biochemical Society transactions</i> , 2017, vol. 45, p. 27-36

Métabolisme du Fer et ARN non codant.	He XY, Fan X, Qu L, Wang X, Jiang L, Sang LJ, Shi CY, Lin S, Yang JC, Yang ZZ, Lei K, Li JH, Ju HQ, Yan Q, Liu J, Wang F, Shao J, Xiong Y, Wang W, Lin A LncRNA modulates Hippo-YAP signaling to reprogram iron metabolism <i>Nature Communications</i> , 2023, vol. 14, art. 2253, p. 1-17
	Torti S, Torti F Iron and cancer: more ore to be mined <i>Nature Reviews Cancer</i> , 2013, vol. 13, p. 342-355
Métabolisme, Immunité et Cancer.	Pandit M, Kil YS, Anh JH, Pokhrel R, Gu Y, Mishra S, Han Y, Ouh YT, Kang B, Jeong MS, Kim JO, Nam JW, KO HJ, Chang JH Methionine consumption by cancer cells drives a progressive upregulation of PD-1 expression in CD4 T cells <i>Nature communications</i> , 2023, vol. 14, art. 2593, p. 1-15
	Pavlova N, Zhu J, Thompson C The Hallmarks of Cancer Metabolism: still emerging <i>Cell metabolism</i> , 2022, vol. 34(3), p. 355-377
Mitochondrie et destinée.	Li W, Long Q, Wu H, Zhou T, Duan L, Yuan H, Ding Y, Huang Y, Wu Y, Huang J, Liu D, Chen B, Zhang J, Qi J, Du S, Li L, Liu Y, Ruan Z, Liu Z, Liu Z, Zhao Y, Lu J, Wang J, Chan WY, Liu X Nuclear localization of mitochondrial TCA cycle enzymes modulates pluripotency via histone acetylation <i>Nature Communications</i> , 2022, vol. 13, art. 7414, p. 1-15
	Wanet A, Arnould T, Najimi M, Renard P Connecting Mitochondria, Metabolism, and Stem Cell Fate <i>Stem Cells and Development</i> , 2015, vol.24, p. 1957-1971
Régulation thermique.	Xiao F , Jiang H, Li Z, Jiang X, Chen S, Niu Y, Yin H, Shu Y, Bo Peng 1, Lu W, Li X, Li Z, Lan S, Xu X, Guo F Reduced hepatic bradykinin degradation accounts for cold-induced BAT thermogenesis and WAT browning in male mice. <i>Nature Communications</i> , 2023, vol. 14, art. 2523, p. 1-17
	Harms M, Seale P Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential <i>Nature Medicine</i> , 2013, vol. 19, p. 1252-1263

RAPPORT DU JURY D'ECD

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,83 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **04,00 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **52,4 %**
- Moyenne des candidats admis : **14,05 / 20**

Rapport sur l'épreuve d'ECD

Chaque dossier comporte sous forme papier un article de recherche associé à une revue, avec le cas échéant des documents supplémentaires tels que des figures et/ou des tableaux (enregistrés sur une clé USB). La présentation de 30 minutes, doit être centrée sur l'article de recherche, la revue fournissant des éléments de contexte utiles pour l'introduction en particulier. Cet exercice doit permettre à l'ensemble du jury de comprendre la problématique posée, la chronologie et logique expérimentale et les éléments de réponses apportés par la publication scientifique. L'exposé doit présenter la ou les hypothèse(s) et question(s) scientifique(s) posée(s) ainsi que la démarche scientifique et technologique adoptée pour apporter des éléments de réponse. Il est donc préférable d'éviter de donner la conclusion de l'article de recherche en introduction. La structure de la présentation ne nécessite pas forcément un plan différent de celui de l'article. Les résultats et technologies présentés devront être cohérents et suffisants afin de bien comprendre la progression expérimentale mise en place pour répondre à la/les question(s) posée(s). Elle peut être basée sur celle de l'article qui est généralement constitué d'une introduction, de matériels et méthodes, de résultats analysés et d'une conclusion associée à des perspectives. Le choix de ne pas présenter certaines données sera susceptible d'être questionné par les membres du jury.

Dans l'introduction, il est important de resituer l'étude dans un contexte plus large, scientifique voire sociétal si le sujet s'y prête, ce qui n'a pas toujours été fait par les candidats. Cependant, la question scientifique à laquelle l'article de recherche répond doit être clairement posée, ainsi que les connaissances scientifiques préalables à l'étude. Ces connaissances sont fournies dans la revue et/ou dans l'introduction de l'article de recherche. Enfin, l'accès à Internet constitue une autre source d'informations tant que ces sources sont mentionnées.

La présentation doit s'appuyer sur la description, l'analyse des expériences de recherche et ne pas présenter uniquement une série de conclusions. Elle ne doit pas forcément être un exposé linéaire et exhaustif des différentes expériences mais un choix justifié pour expliciter la démarche scientifique. Les efforts des candidats pour illustrer leurs propos par des documents issus des articles ou de sites Internet et retravaillés sont appréciés par le jury. La présentation doit être aboutie avec des figures et données lisibles par le jury. Chaque diapositive doit étayer une idée ou illustrer une technologie en s'appuyant sur un choix pertinent de figures, de données et de texte associé. Les figures et tableaux supplémentaires font partie intégrante de l'épreuve et seront donc exploités si cela est jugé nécessaire. Nous rappelons aux candidats que lors de leur présentation, ils doivent s'appuyer sur des figures, des tableaux pour présenter les résultats et étayer leur propos. Le lien et les transitions entre les différentes expériences, ainsi que les conclusions intermédiaires sont attendus. En cas de techniques centrales ou originales dans l'article, ou d'approches expérimentales

complexes, une description du principe de l'expérience est attendue. Les nouvelles technologies, notamment de séquençage à haut débit (NGS) et de méta-séquençage et les principes de leur analyse, doivent être maîtrisées. Il peut parfois être pertinent de souligner une partie perfectible d'expériences (contrôles supplémentaires, taille de l'échantillon, analyse statistique...) quand cela s'y prête, au fil de l'exposé et de proposer une ouverture aux données présentées. Une conclusion reprenant les résultats majeurs, éventuellement sous forme de schéma récapitulatif, est attendue. Le jury appréciera également des perspectives réalistes et une analyse critique globale de l'étude présentée.

Le jury encourage les candidats à utiliser pleinement les 30 minutes qui leur sont allouées pour présenter l'article. L'utilisation du tableau en plus de la vidéo projection peut être un atout pédagogique, sauf quand il s'agit de répéter les plans déjà projetés ou les informations présentes sur la diapositive.

Enfin, les questions représentent la moitié du temps de l'épreuve. Cet aspect fait partie intégrante de l'épreuve et n'est donc pas à négliger. Pour rappel, le temps de questionnement du jury suite à l'exposé oral est invariablement de 30 minutes, dont 15 minutes par le membre du jury qui a donné l'ECD. Remarque : en cas d'exposé oral inférieur à 30 minutes, le temps de questionnement reste de 30 minutes. Ces questions sont l'occasion pour le jury de sonder le candidat sur la pleine compréhension de l'article de recherche, sur l'étendue et la solidité de ses connaissances (technologiques et théoriques), et sur sa capacité à répondre à des questions en marge du domaine traité dans le dossier. La capacité d'écoute, la précision/pertinence du vocabulaire utilisé, ainsi que la qualité et la concision des réponses sont des qualités très appréciées par le jury.

Afin de se préparer au mieux à cette épreuve d'ECD, le jury invite les futurs candidats à lire régulièrement de la littérature scientifique, notamment certains journaux généralistes comme « Cell, Nature, PNAS », « *Frontiers in...* » ou « *Médecine Sciences* ». Ces journaux permettront aux candidats de s'améliorer pour cette épreuve mais aussi de réactualiser leurs connaissances scientifiques et techniques.

Enfin, le jury rappelle qu'il faut être attentif à l'orthographe, la syntaxe et la grammaire sur les diapositives.

Rapport sur les questions relatives à la Chimie

L'entretien avec le jury débute par environ 5 minutes de questions de chimie. La discussion est généralement initiée sur la base d'un ou plusieurs éléments contenus dans la présentation du candidat ou dans le dossier scientifique de l'ECD.

Cette année, les questions ont globalement porté sur les thèmes suivants (cette liste n'est pas exhaustive et à vocation à évoluer d'une année sur l'autre) :

- Architecture de la matière

- Les définitions des termes élément, atome, ion, molécule ne sont pas toujours maîtrisées avec suffisamment de précision.
- L'établissement d'une configuration électronique d'un élément dans son état fondamental est laborieux et les règles de Klechkowski, Pauli et Hund sont confondues.
- La représentation de Lewis des molécules est bien souvent très approximative.

- Les ions moléculaires classiques en chimie sont bien souvent méconnus (phosphate, nitrate,...) et les structures des molécules essentielles en biochimie (acides aminés, sucres simples, sucres phosphatés, triglycérides, bases nucléiques,...) sont représentées très approximativement.
- Le principe de construction du tableau périodique et l'évolution de quelques propriétés sont bien maîtrisés.
- Les interactions intermoléculaires sont connues, mais les ordres de grandeurs des énergies de liaison et des longueurs de liaison beaucoup moins.

- Chimie des solutions/chimie inorganique

- Les transformations chimiques modélisées par des réactions acido-basique ou d'oxydoréduction sont plutôt bien maîtrisées.
- Les propriétés des solutions tampon sont partiellement connues et parfois confondues avec la constitution de cette même solution.
- La structure générale d'un complexe est connue.

- Thermodynamique

- Les grandeurs G , H et S sont connues ainsi que le lien entre la constante thermodynamique et $\Delta_r G^\circ$.
- Les candidats confondent G , ΔG , ΔG° ou encore $\Delta_r G^\circ$. La définition de l'état standard n'est pas connue.

- Cinétique

- Les notions de catalyse et de catalyse enzymatique sont maîtrisées.

- Chimie organique

- Les fonctions chimiques classiques sont connues. Un bémol est à mettre sur la reconnaissance de la fonction hémiacétal.
- La définition de l'isomérisation est très approximative, trop souvent restreinte à la stéréoisomérisation. De plus, trop de candidats se contentent de donner un exemple en guise de définition.
- Les différents types de stéréoisomérisation sont mal maîtrisés.
- La chiralité est correctement définie, mais confondue dans son application avec la stéréoisomérisation.
- La réactivité des fonctions classiques en chimie est plutôt bien connue.

- Techniques d'analyse

- Les techniques expérimentales de pH -métrie, de chromatographie (CCM et HPLC), UV, fluorescence, IR, MS sont plutôt bien connues.
- La relation liant E et λ est connue, mais son analyse dimensionnelle est plus complexe à réaliser pour les candidats.

Le jury ne peut que conseiller aux futurs candidats de connaître la signification des acronymes relatifs à la chimie et de savoir représenter correctement les molécules classiques de la chimie et de la biochimie évoquées lors de leur présentation.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les candidats présents aux épreuves d'admissibilité et d'admission venaient, comme chaque année, d'horizons assez différents, y compris des docteurs en sciences d'une discipline biologique, l'agrégation externe spéciale docteurs n'étant pas ouverte cette année.

Les résultats aux épreuves d'admissibilité et d'admission confirment que ce concours de recrutement d'enseignants pour une discipline scientifique et technologique de ce niveau scientifique nécessite de consolider ses connaissances et d'actualiser ses savoirs dans chaque champ mentionné dans le programme, la biochimie, la microbiologie, l'immunologie, la biologie cellulaire, l'hématologie, la biologie moléculaire ou la physiologie humaine. Ce n'est qu'à ce prix que les candidats peuvent construire une expertise disciplinaire suffisamment large pour enseigner en série technologique STL biotechnologie et ST2S en BPH, ainsi qu'en BTS de biologie appliquée.

Cette année encore, le jury des épreuves d'admission s'est réparti en deux commissions travaillant en parallèle pour le passage des épreuves orales, une par épreuve. Cette organisation permet d'une part l'évaluation équitable des prestations des candidats lors de l'étude critique de dossier et lors de la leçon, car chaque commission voit chaque candidat une fois. Cela permet d'autre part le déroulement des épreuves sur deux jours consécutifs pour chaque candidat et limite pour eux les frais engagés.

Évaluer la capacité des candidats à assurer une mise à niveau de leurs connaissances est un des objectifs assignés à ce concours parce que l'évolution continue des techniques et des connaissances dans les champs disciplinaires couverts par le programme nécessite une remise en question permanente de la part des futurs agrégés.

Chaque épreuve nécessite d'autre part, comme cela a été précisé dans les rapports spécifiques, d'aborder le sujet par un temps de réflexion pour cerner le sujet et la problématique, de faire preuve de bon sens, d'avoir présent à l'esprit la volonté de transmettre un message qui aidera, certes, à la structuration d'une composition écrite ou d'une présentation orale, mais aussi à distinguer l'essentiel de l'accessoire. Il convient de ne pas oublier que l'agrégation est un concours d'enseignement qui évalue également l'aptitude des candidats à organiser, structurer, présenter un propos et de le faire avec une didactique efficace. L'esprit de synthèse et les choix qui en découlent sont des qualités essentielles pour un professeur et cela encore plus lorsque le corpus de connaissances attendues est très important.

Les travaux pratiques, qui constituent une des originalités de ce concours ont pu cette année, remplir leur rôle, emblématique de cette agrégation, préfigurant une part non négligeable des enseignements auxquels sera confronté le futur agrégé de « biochimie génie biologique ». L'évaluation des compétences technologiques et expérimentales qui se déploient en lycée général et technologique, ou à l'IUT, dans les laboratoires de biochimie, de microbiologie de biologie humaine, de biologie moléculaire, de biologie cellulaire. Ces compétences sont indispensables pour assurer la formation en STL biotechnologies, en BPH en ST2S, dans les 7 sections de BTS de « biologie appliquée », en CPGE Technologie Biologie ou en BUT de génie biologique, dans lesquelles enseignent les professeurs agrégés de BGB. Ces compétences sont également indispensables pour la mise en œuvre de manipulations en laboratoire de recherche en biologie pour ceux qui choisiront de poursuivre par un doctorat pour devenir chercheur.

Pour l'épreuve d'étude critique de dossier, l'accès à Internet représente incontestablement une aide lors de l'épreuve, aussi bien en matière de traduction des articles écrits en anglais scientifique, que pour découvrir certains concepts du dossier scientifique. Cependant, cette perspective faussement rassurante ne doit pas abuser les futurs candidats car elle ne peut en aucun cas pallier l'absence de maîtrise des concepts de biologie et de biotechnologie, *a priori*. Cette épreuve nécessite également de développer une pratique de la lecture et de l'analyse d'articles scientifiques nombreux et variés, et ce afin de se familiariser avec cette démarche et approche bibliographique de la recherche pour bien se préparer à l'épreuve.

Certains candidats ont impressionné le jury par leur maîtrise de l'analyse des articles ou du sujet, et par la clarté et la concision de la présentation de concepts, scientifiques ou technologiques complexes. Le jury encourage les candidats non reçus à persévérer dans leur projet, d'autant que tous ont fait preuve de qualités remarquables dans certaines épreuves.

Le jury remercie également le personnel administratif de l'ENCPB, ainsi que le personnel d'accueil et d'entretien, pour le travail efficace concernant l'organisation et l'implication nécessaires au bon déroulement de ce concours.

Je tiens à remercier en particulier Madame Nora Machuré, Provisoire de l'ENCPB et son équipe : proviseurs-adjoints, DDFPT, professeurs agrégés de « biochimie - génie biologique » concepteurs de sujet et préparateurs des épreuves pratiques, qui ont évalué les prestations des candidats, conçu, et préparé les Travaux Pratiques avec l'aide des personnels de laboratoire de chimie, de biochimie, de microbiologie, de biologie cellulaire et moléculaire, indispensables au bon déroulement des épreuves pratiques. Grâce à l'engagement de chacun des acteurs impliqués dans sa préparation et son organisation, la session 2023 de l'agrégation de biochimie-génie biologique a pu avoir lieu dans des conditions très satisfaisantes.