



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

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Rapport du jury

Concours : AGREGATION EXTERNE

SECTION : Biochimie Génie Biologique

Session 2022

Rapport de jury présenté par : Caroline BONNEFOY, Présidente du jury
Inspectrice générale de l'éducation, du sport et de la recherche

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	13
Rapport de Jury	13
ÉPREUVES D'ADMISSION	
Travaux Pratiques de Biochimie – Physiologie	
Sujet (et dossier technique)	16
Rapport de Jury	33
Travaux Pratiques de Microbiologie	
Sujet	40
Rapport de Jury	54
Travaux Pratiques de Chimie	
Sujet	61
Rapport de Jury	74
Épreuve Orale de Leçon	
Sujets	78
Rapport de Jury	79
Épreuve Orale d'Étude Critique de Dossier scientifique et/ou technique	
Sujets	84
Rapport de Jury	87
CONCLUSION GENERALE	90

INTRODUCTION

Le jury souhaite tout d'abord féliciter les lauréats de la session 2022. Les épreuves du concours externe de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique écrites, orales et pratiques, ont pu se dérouler en conditions habituelles.

Les candidats admis ont su montrer leur aptitude à enseigner au plus haut niveau et à effectuer de la recherche 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.

La forme de composition permet de plus d'évaluer les qualités didactiques des candidats, qualités de synthèse, capacité à structurer, explicitations rédigées des concepts, choix des représentations pour démontrer à l'aide d'illustrations.

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 protocole, de mise en œuvre expérimentale et d'analyse critique des résultats expérimentaux obtenus.

Enfin les qualités pédagogiques nécessaires pour transmettre ces concepts scientifiques complexes et nombreux, ainsi que les concepts technologiques expliquant les principes 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 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 2023. Le nombre de candidats reste stable et le concours montre une attractivité qui 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 également le mérite des candidats enseignants, certifiés ou contractuels avec très souvent un parcours dans la recherche en biologie, qui présentent ce concours et se félicitent que certains d'entre eux réussissent, même s'il leur faut parfois persévérer plusieurs sessions.

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Candidats inscrits	214
Candidats présents aux trois épreuves d'admissibilité (non éliminés)	74
Nombre de postes	10
Candidats admissibles	22
Candidats présents aux épreuves d'admission	18
Candidats proposés pour l'admission	10
Barre d'admissibilité (sur 20)	09,47
Barre d'admission (sur 20)	11,32

ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE

Moyenne générale des candidats présents (sur 20)	07,43
Moyenne générale des candidats admissibles (sur 20)	12,27

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	07,05
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,31
Note maximale (sur 20)	17,20

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	07,60
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,45
Note maximale (sur 20)	16,50

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	07,08
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,07
Note maximale (sur 20)	18,40

ÉPREUVES D'ADMISSION

Moyenne générale des candidats présents (sur 20) 11,40

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 13,49

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 11,76

Moyennes des candidats admis (sur 20) 13,55

Note maximale (sur 20) 18,00

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 11,00

Moyennes des candidats admis (sur 20) 13,55

Note maximale (sur 20) 18,00

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 09,16

Moyennes des candidats admis (sur 20) 10,85

Note maximale (sur 20) 15,00

LEÇON

Moyenne des candidats présents (sur 20) 12,28

Moyennes des candidats admis (sur 20) 14,55

Note maximale (sur 20) 18,00

ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 11,67

Moyennes des candidats admis (sur 20) 14,10

Note maximale (sur 20) 19,00

ENSEMBLE DU CONCOURS

Moyenne générale des candidats présents admissibles (sur 20) 11,77

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 13,63

ÉPREUVES ÉCRITES D'ADMISSIBILITÉ

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Enzymes allostériques et régulation des flux métaboliques.

Après avoir présenté les caractéristiques des enzymes michaeliennes et des enzymes allostériques, vous montrerez, en vous appuyant sur des exemples précis illustrés par des schémas clairs et annotés, l'importance de l'allostérie dans la régulation des flux métaboliques

RAPPORT DU JURY DE BIOCHIMIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **07,05 / 20**
- Meilleure note : **17,20 / 20**
- Note la plus basse : **00,80 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,31 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **15,08 / 20**

Après avoir proposé un plan précis et détaillé, le sujet posé nécessitait de traiter en première partie des deux grandes catégories d'enzymes, michaeliennes et allostériques, puis de cibler spécifiquement la deuxième catégorie en insistant sur leurs propriétés de régulation et de catalyse dans un contexte de chef d'orchestre des flux métaboliques.

Nombre de candidats ont négligé ou réduit à sa plus simple expression une de ces parties. Le jury déplore que des confusions entre enzymes michaeliennes et allostériques aient été faites, et que dans d'autres compositions des omissions nombreuses aient été notées sur les critères

caractéristiques des enzymes allostériques : état R et état T, effecteur homotrope *versus* hétérotrope, nombre de Hill (aspect coopératif), ou enzyme de type K ou de type V... Plusieurs candidats en guise d'exemple ont traité de l'hémoglobine sans préciser qu'il s'agit ici d'un transporteur répondant aux critères de l'allostérie mais en aucun cas d'enzyme allostérique ce qui est évidemment très dommageable et pénalisant à ce niveau d'attente dans le cadre d'un concours d'agrégation. Le jury attendait que chaque candidat prenne un exemple bien précis d'enzyme allostérique pour illustrer la composition (ATCase, PFK1...) et termine par une ouverture qui pouvait se traduire par un aspect méthodologique par exemple. Une attention particulière a été portée à la tenue de la copie, à l'orthographe et à la syntaxe, ainsi qu'aux schémas clairs explicites.

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Résistance des agents pathogènes aux moyens de lutte préventifs et curatifs.

En choisissant quelques exemples parmi les bactéries, les virus, voire les parasites, vous illustrerez les principaux types de mécanismes de résistance développés par les agents pathogènes. Vous montrerez ensuite quels sont les enjeux pour la société et l'environnement.

RAPPORT DU JURY DE MICROBIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **07,60 / 20**
- Meilleure note : **16,50 / 20**
- Note la plus basse : **00,50 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,45 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **12,52 / 20**

Le sujet portait sur la résistance des agents pathogènes aux moyens de lutte préventifs et curatifs, la description des principaux mécanismes qui permettent ces résistances en s'appuyant sur quelques exemples choisis parmi les différentes catégories de pathogènes, *a minima* bactéries et virus. Enfin, une interrogation sur les enjeux de ces résistances pour la société et l'environnement était attendue.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

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

Un agent pathogène pouvait être défini comme un (micro)organisme vivant ou non (on y inclut les « virocells », c'est-à-dire les virus vivant dans leur cellule, ainsi que les prions) qui induit un dysfonctionnement/une maladie/la mort chez son hôte animal (humain) ou végétal, voire

procaryote (bactéries et leurs bactériophages). On pouvait, par simplicité, limiter le sujet aux agents pathogènes humains, ce qui amenait à traiter des bactéries, des virus, des parasites, des mycètes microscopiques, unicellulaires infectant l'homme. On pouvait rappeler que ces agents pathogènes entrent dans l'organisme par différentes voies : orale (canal alimentaire), aérienne, sexuelle (les muqueuses sont alors en premières lignes), via une plaie ou via la pique d'un insecte vecteur.

Il convenait ensuite de mentionner les moyens naturels de défense : barrières naturelles, réponse immunitaire innée (rapide à se mettre en place mais non spécifique) et adaptative (spécifique mais plus lente). Ces moyens peuvent être renforcés par la mise en œuvre de moyens préventifs dont le but est d'empêcher l'infection. Ils incluent les moyens simples de protection (masques, gel hydroalcoolique, des techniques adaptées de conservation des aliments, ...) ainsi que l'éducation du système immunitaire par les vaccins.

Lorsque les moyens préventifs sont dépassés, l'infection se développe. Elle peut alors être combattue par des moyens curatifs qui visent à diminuer l'intensité des symptômes, voire à éliminer l'agent pathogène. Ces moyens curatifs sont adaptés aux différents types d'agents pathogènes et se déclinent par exemples en antiseptiques, antibiotiques, anti-viraux, anti-parasitaires, anti-fongiques.

Cependant, les pathogènes réagissent aux contraintes qui leur sont imposées par ces molécules ou ces vaccins en développant des résistances à ces moyens préventifs et curatifs : cette résistance concerne tous les types d'agents infectieux (bactéries, virus, parasites dont vecteurs insectes, mycètes) et comprennent l'échappement à la réponse immunitaire spécifique et donc aux vaccins ainsi que la résistance aux molécules utilisées pour tuer les pathogènes.

Cette « course aux armements » n'est donc pas sans poser de nombreux problèmes pour la société et l'environnement.

Le plan le plus logique qui était attendu comprenait donc 1/ la résistance aux moyens de prévention, 2/ la résistance aux moyens curatifs et 3/ les enjeux de ces résistances pour la société et l'environnement.

Concernant la résistance aux moyens de prévention des infections :

On pouvait mentionner les moyens naturels de prévention des infections. Sont inclus dans ces moyens naturels de prévention, les barrières naturelles aux agents pathogènes : l'épithélium pluristratifié kératinisé de la peau et sa transpiration acide, les sécrétions contenant du lysozyme (larmes, salive), le mucus et les cils vibratiles des voies respiratoires, la flore vaginale acide de Döderlin, la microflore commensale intestinale et celle présente sur la peau sont autant de protections naturelles qui empêchent la colonisation par les pathogènes.

On pouvait également mentionner le renforcement des moyens naturels de prévention des infections par des moyens simples comme :

- l'utilisation de masques contre les pathogènes transmis par voie aérienne (ex : protection contre le SARS-Cov2), de préservatifs contre la plupart des agents infectieux transmis par voie sexuelle (ex : HIV), le lavage fréquent des mains à l'aide d'un gel hydroalcoolique ou tout simplement à l'eau et au savon contre les infections transmises par voie orale (ex : les infections

liées au péril fécal), l'usage de matériel stérile à usage unique contre les infections par voie sanguine ;

- l'utilisation de détergents et d'antiseptiques pour le nettoyage des surfaces, les moyens ancestraux de prévention des infections alimentaires par les bactéries et leurs toxines (salaison : risque de sélection de bactéries halophiles ; stérilisation par la chaleur sèche ou humide ou les rayonnements ionisants : risque de spores bactériennes résistantes à la chaleur si la température n'est pas assez élevée ; fermentation et acidification : risque de bactéries résistantes à l'acide).

Dans la rubrique concernant la vaccination préventive, il convenait de définir ce qu'est un vaccin : l'introduction ou l'injection d'un pathogène (ou certains de ses dérivés) ayant perdu ses capacités infectieuses mais capable de stimuler une réponse immunitaire spécifique et de générer une réponse mémoire qui permettra une réponse adaptée, rapide et importante lors d'une rencontre ultérieure avec le même pathogène. Le but est donc ici d'éduquer le système immunitaire afin de le préparer à une rencontre future avec ce même pathogène. On pouvait ici rappeler brièvement en quoi consiste une réponse immunitaire spécifique et comment elle se met en place : il fallait bien mentionner la mise en place d'une réponse humorale ET cellulaire, toutes deux spécifiques de ce pathogène. Il fallait aussi souligner que parmi les lymphocytes, une catégorie prend toute son importance, les lymphocytes (B et T) mémoires. On pouvait mentionner rapidement les différentes catégories de vaccins (vivants atténués, inactivés, recombinants, à ARNm) ainsi que les intérêts et leurs limites. Enfin, il était attendu que quelques mécanismes d'échappement aux vaccins soient développés (ils rejoignent d'ailleurs les mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire spécifique indépendante de tout vaccin). On pouvait ainsi mentionner :

1/ la variation antigénique, mécanisme développé par de nombreux virus (Influenza virus, VIH, ...), de nombreux parasites protozoaires (*Trypanosoma brucei*, pas de vaccin dans ce cas ; *Plasmodium falciparum* ; *Giardia lamblia*, pas de vaccin dans ce cas) ;

2/ la vie à l'intérieur d'une cellule, voire l'intégration du génome dans le génome de la cellule hôte et chronicité de l'infection. On pouvait par exemple citer les Protozoaires intracellulaires vivant dans une vacuole parasitophore (exemple de *Toxoplasma gondii* : infection à vie), l'intégration du génome d'un virus (ex : VIH, intégration du génome après rétrotranscription dans le génome des lymphocytes CD4+ ou des macrophages infectés) sans charge virale détectable pendant une dizaine d'années, ou les bactéries qui se laissent phagocyter mais empêchent la fusion du phagosome avec les lysosomes (exemple de *Listeria monocytogenes* ou de *Mycobacterium tuberculosis*) ;

3/ les formes de résistance des agents infectieux : les spores bactériennes, les kystes intracellulaires des Protozoaires (*T. gondii*).

Dans ce développement, le jury n'attendait pas un cours sur le développement de la réponse immunitaire. Il espérait en revanche que ses étapes clés soient mentionnées en insistant bien sur la mise en place de la réponse mémoire B et T dans le cas de la vaccination.

Concernant la résistance des pathogènes aux moyens curatifs :

Il convenait tout d'abord de développer les antibiotiques et les bactériostatiques en commençant par les définir, en donnant leurs cibles et en expliquant leurs modes d'action soit sur la paroi bactérienne, la membrane bactérienne, la synthèse de l'ADN ou de l'ARN ou des protéines ou des précurseurs des folates et acides aminés. Il était ensuite attendu que les effets de ces résistances soient détaillés : modification de la cible de l'antibiotique, dégradation de l'antibiotique par la synthèse d'une enzyme appropriée ou sortie des molécules d'antibiotiques par l'expression de

pompes à efflux. Enfin, le jury attendait que les mécanismes d'acquisition des résistances bactériennes soient décrits : 1) mécanismes intrinsèques par mutations naturelles et sélection des mutations avantageuses puis transmission verticale lors de la division bactérienne ; 2) par transfert horizontal de gènes : transformation bactérienne, conjugaison bactérienne, transduction. On pouvait alors mentionner que le mécanisme le plus fréquent à la base de l'acquisition de résistances est la transformation d'ADN extracellulaire. Celle-ci est favorisée lorsque les bactéries vivent à l'intérieur d'un biofilm (qui était à définir brièvement). Les biofilms pouvaient donc être cités comme moyen de résistance aux antibiotiques, voire aux moyens de prévention.

Ce paragraphe amenait donc logiquement à insister sur l'importance des éléments mobiles du génome bactérien dans l'émergence et la transmission des résistances (on pouvait mentionner les transposons et les intégrons).

Même si les antibiotiques en tant que moyen de traitement des infections constituaient une partie importante de ce paragraphe, le sujet ne se limitait pas aux seuls antibiotiques : il convenait de développer également :

- les antiviraux et les anti-rétroviraux viricides et viriostatiques qui inhibent une étape clé du cycle de réplication d'un virus. Il était important de mentionner que les résistances sont plus importantes pour les virus à ARN car le taux d'erreur de l'ARN polymérase est plus important que celui de l'ADN polymérase. On pouvait par exemple développer la résistance au Tamiflu du virus de la grippe ;
- les anti-parasitaires et anti-fongiques et les résistances qui sont actuellement connues. On pouvait par exemple mentionner 1) la résistance du *Plasmodium falciparum* à la chloroquine, la sulfadoxine et pyriméthamine (Fansidar) ainsi qu'à l'artémisinine et 2) la résistance des *Candida* au fluconazole et aux échinocandines.

Concernant les enjeux des résistances :

Il convenait de faire ressortir les enjeux des problèmes liés aux résistances pour la société :

- on pouvait mentionner que les infections se propagent très rapidement dans nos sociétés développées, comme l'a prouvé récemment la pandémie à SARS-Cov2. Ceci est dû bien sûr aux voyages, aux concentrations de populations dans certaines zones géographiques et cela est également facilité par la déforestation couplée à l'altération des milieux naturels, ce qui a pour conséquence de rapprocher de nouvelles espèces animales des humains, d'où l'apparition facilitée de zoonoses (le franchissement de barrière d'espèce par certains virus a permis l'émergence par exemple du VIH ou de la forme sylvatique de *Trypanosoma cruzi*) ;
- il fallait bien évidemment parler du coût humain des résistances, ce qui constitue un enjeu majeur de santé publique. On pouvait par exemple mentionner les prévisions de l'OMS qui estime qu'on devrait atteindre les 50 millions de morts annuellement d'ici 2050 du fait des impasses thérapeutiques liées aux infections par des bactéries multi-résistantes, les personnes les plus touchées étant les plus âgées, les plus jeunes et les sujets immunodéprimés ;
- on pouvait introduire la notion de DALYS (Disability-adjusted life years), les conséquences des infections (multi) résistantes aux traitements sur l'impossibilité pour les enfants d'aller à l'école (compromission de leur avenir), le prix exorbitant des traitements de longue durée, les conséquences pour l'économie d'un pays suite à ces résistances, la prolongation des traitements, les pertes humaines, le prix des recherches pour trouver de nouvelles molécules actives ou des alternatives aux molécules impliquées dans les résistances.

Le jury attendait également que l'enjeu des résistances pour l'environnement soit abordé succinctement : on pouvait parler des conséquences directes des infections (multi-résistantes) sur la baisse de rentabilité des élevages et surtout la pollution des sols et des eaux par des antibiotiques par exemple, ce qui favorise la propagation des résistances par transfert horizontal de gènes. La maîtrise de l'assainissement de l'eau est donc là aussi un enjeu majeur dans une société et il dépend beaucoup du niveau de développement d'un pays.

Enfin, on pouvait mentionner que le problème des résistances liées aux agents pathogènes concerne bien entendu la résistance des pathogènes eux-mêmes mais il peut aussi être étendu aux résistances développées par les vecteurs des agents pathogènes contre les insecticides utilisés pour les éliminer (ex : résistance des moustiques au DDT), ce qui n'est pas sans conséquence pour la biodiversité.

En conclusion, il n'était pas nécessaire de reprendre DANS LE DETAIL, l'ensemble de tous les points présentés dans le devoir mais on pouvait quand même insister sur un point : les résistances naturelles sont inévitables car les mutations naturelles continueront d'apparaître de façon aléatoire et spontanée du fait des erreurs de réplication de l'ADN (NON, les agents infectieux ne mutent pas POUR échapper aux moyens curatifs, comme on l'a lu dans plusieurs copies !). Par contre, il est vital d'éviter la sélection de ces mutations naturelles qui conduisent à une résistance. Pour cela, les stratégies préconisées par l'OMS et les autres agences de santé sont 1/ de ne jamais utiliser une molécule unique mais d'utiliser des combinaisons de molécules actives contre des cibles cellulaires variées ; 2/ d'utiliser des molécules sans contrefaçon et correctement dosées ; 3/ de respecter les prescriptions médicales. Ceci passe donc par l'éducation des populations sur ces nécessités (spots publicitaires télévisés et radiophoniques, affiches n'utilisant que des schémas de façon à être compréhensibles même pas les personnes analphabètes ou ne parlant pas la langue locale, ...), ce qui est coûteux et doit être renouvelé régulièrement. Le soutien des états à la recherche fondamentale et appliquée est également attendu afin de développer de nouvelles molécules thérapeutiques, tout en sachant que ce développement est long, coûteux et surtout, il risque de prolonger « la course aux armements » qui a déjà conduit à des impasses thérapeutiques (modèle de la « red queen »). Le développement d'alternatives à l'utilisation de molécules ou de vaccins « classiques » doit donc également être encouragé. On pouvait ainsi mentionner le développement de l'utilisation des cocktails de bactériophages comme alternative aux antibiotiques ou le développement récent des vaccins à ARNm dont le principe est applicable à une multitude de maladies infectieuses.

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. La plupart des candidats n'ont cependant pas pensé à mentionner dans leur texte, à quel moment ces schémas devaient être observés.

Remarque : les mots d'origine latine doivent être employés au singulier/pluriel selon les besoins de la phase (1 pilus, DES pili).

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Cancer et cellules cancéreuses.

Après avoir décrit les processus moléculaires pouvant conduire à l'obtention des cellules cancéreuses, vous explicitez les mécanismes dont dispose notre organisme pour lutter contre la carcinogénèse. La physiologie des cellules cancéreuses et la progression métastatique seront explicitées. Tout au long de votre exposé, vous vous appuyez sur des exemples en développant les approches expérimentales pour étayer votre présentation.

RAPPORT DU JURY DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **07,08 / 20**
- Meilleure note : **18,40 / 20**
- Note la plus basse : **00,00 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,07 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **14,11 / 20**

Le cancer est une pathologie se développant à partir d'une seule cellule. Le développement de cette maladie à partir d'une cellule normale se déroule généralement sur un temps relativement long.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

Le cancer est une pathologie multigénique. Chaque cancer a pour origine l'altération de 10 à 20 gènes. Les aspects de dérégulation des gènes, de suppresseurs de tumeurs, de proto-oncogènes étayés par des exemples et des illustrations étaient indispensables. Il était nécessaire d'évoquer les protéines p53, pRB, ainsi que certains proto oncogènes tel que RAS ou MYC. Un facteur majeur du processus de cancérisation est l'apparition de mutations, celles-ci peuvent être

intrinsèques (erreurs de réplifications, héréditaires) ou extrinsèques (agents génotoxiques) soit induite suite à l'infection par des virus. Il était attendu des candidats d'aborder au moins en partie ces notions moléculaires. La mention d'une régulation épigénétique était un plus que nous avons retrouvé dans certaines compositions.

Différentes étapes ont été identifiées dans le développement d'un cancer : l'initiation, la promotion et la progression. Dans un premier temps, il se produit une lésion majeure au niveau de l'ADN d'une cellule ; il en résulte une transformation de cette cellule. Dans un second temps, la cellule transformée se développe et prolifère en formant un groupe de cellules transformées identiques. Enfin, dans un troisième temps, la cellule acquiert les caractéristiques d'une cellule cancéreuse : elle se multiplie de façon anarchique, en perdant en partie son caractère différencié.

Cette transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse est un processus long, qui peut durer des dizaines d'années. Au terme de cette transformation, la cellule cancéreuse a acquis un certain nombre de caractéristiques dont son indépendance vis-à-vis des signaux qui régulent (favorisent ou freinent) habituellement sa croissance et sa division, sa capacité à échapper au processus de mort cellulaire programmée et surtout sa capacité à se diviser indéfiniment. Il était attendu des candidats une description du cycle cellulaire avec les différentes phases le composant et les points de contrôles le régulant. Ces points de contrôle nécessitent l'intervention d'un grand nombre d'intermédiaires, dont des protéines clefs tel que p53. Ces points de contrôle sont l'occasion pour la cellule d'identifier la survenue d'éventuelles anomalies dans son cycle cellulaire et de déclencher soit une action de correction de ces erreurs, soit son autodestruction (apoptose).

Les cellules cancéreuses parviennent à provoquer la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui irrigueront la tumeur et l'alimenteront en oxygène et en nutriments. C'est ce qu'on appelle l'angiogenèse. La physiologie des cellules cancéreuses est fortement altérée par rapport à des cellules normales mais également leur activité métabolique, ainsi la mention de l'effet Warburg était attendue. Enfin pour aboutir à la progression métastatique, les cellules cancéreuses devenant capables de s'insinuer dans les tissus sains voisins et de migrer dans l'organisme pour donner des métastases, il fallait discuter des jonctions cellules-cellules, des molécules d'adhérence impliquées.

Autre caractéristique remarquable, il arrive que les cellules cancéreuses perdent leur identité, autrement dit les caractéristiques propres aux cellules du tissu auquel elle appartenait, il convenait ainsi de définir les caractéristiques cytologiques des cellules cancéreuses en comparaison aux cellules normales, par exemple le rapport nucléocytoplasmique traduisant une forte synthèse protéique, perte d'adhérence cellulaire...

Toutes les cellules cancéreuses ne donnent cependant pas des cancers menaçant l'organisme. Comme il l'était demandé dans l'énoncé du sujet, les moyens de lutte étaient à discuter dans votre composition. Le système immunitaire du corps dispose en effet d'armes spécialisées, les « cellules tueuses », qui sont capables de détecter les cellules anormales et de les éliminer. Ainsi, il était attendu une présentation minimale des aspects clefs du système d'immunosurveillance en retrouvant notamment les termes suivants : Lymphocytes T, SOI, CMH-I, cellules dendritiques, Natural Killer, perforine, granzyme. Cette partie a été relativement peu retrouvée dans les copies des candidats. Pour certains, la majorité des notions étaient présentes et explicitées par des belles figures qui apportaient un plus à la compréhension et pédagogie de la composition ce qui a été apprécié par le jury.

C'est seulement si ces défenses immunitaires sont débordées et que les voies de réparation des dommages à l'ADN et/ou que l'envoi des cellules anormales en apoptose ne sont pas effectives que le cancer se développe. Dans certaines copies, les traitements thérapeutiques ont été évoqués.

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 formation d'une tumeur. 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 des mécanismes clefs impliqués dans la prolifération cellulaire.

ÉPREUVES D'ADMISSION

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

MODÈLE D'ÉTUDE DE LA MALADIE DE CROHN
ET DÉVELOPPEMENT
D'UNE THÉRAPIE ANTI-INFLAMMATOIRE

INTRODUCTION

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) composées principalement de la colite ulcéreuse et de la maladie de Crohn sont des maladies complexes et multifactorielles d'étiologie inconnue.

La maladie de Crohn atteint la partie terminale de l'intestin grêle, le côlon et l'anus. L'inflammation chronique d'une partie du tube digestif s'aggrave par périodes, ce qui se traduit par une alternance :

- de phases d'activité (ou « poussées »), d'intensité et de durée variables,
- et de phases sans symptôme dites de rémission.

Les mécanismes de survenue de la maladie de Crohn sont encore mal compris. Ils font intervenir des facteurs génétiques, immunitaires et environnementaux.

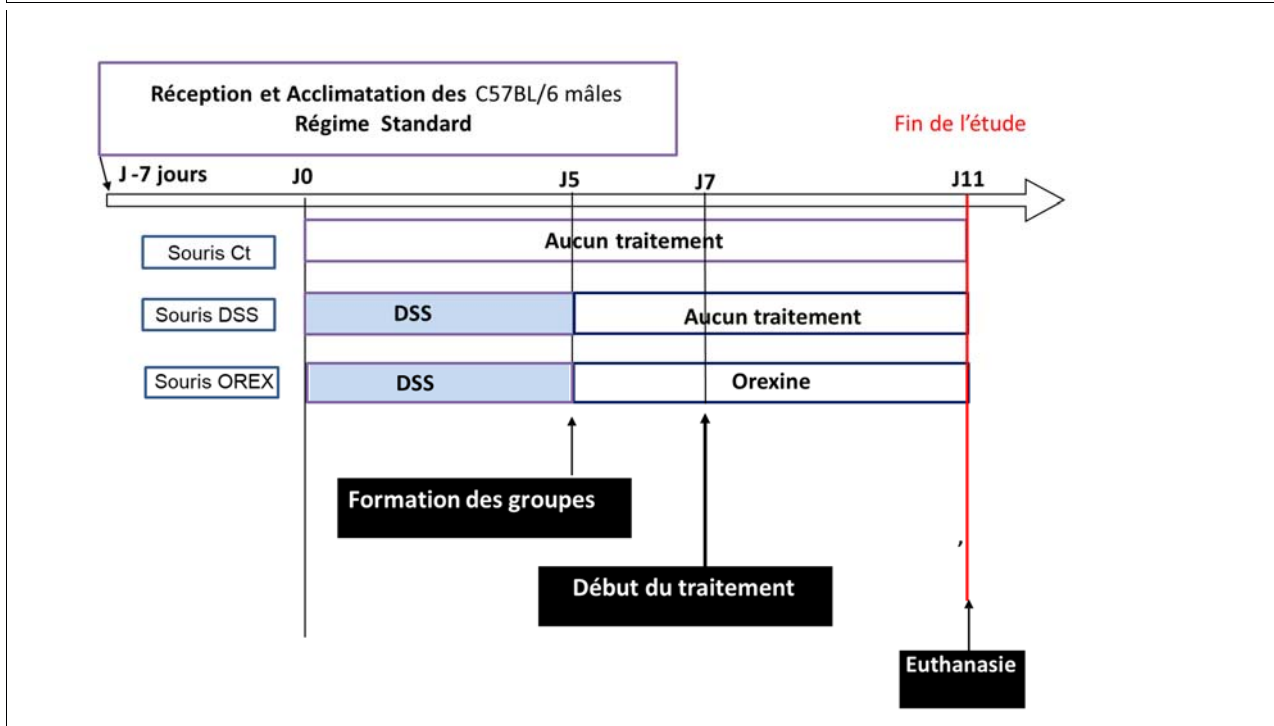
Le traitement de la maladie de Crohn se fait à l'aide de médicaments destinés à diminuer l'activité du système immunitaire : anti-inflammatoires et immunosuppresseurs. La prise d'un traitement d'entretien en dehors des poussées permet de mieux contrôler la maladie et d'éviter d'éventuelles complications. Des mesures chirurgicales peuvent également être mises en œuvre ; elles consistent à enlever la partie de l'intestin à l'origine des complications. Cependant, aucun traitement ne permet de soigner complètement les patients, qui même lorsque la maladie est contrôlée peuvent faire des crises à tout moment.

Depuis 20 ans, nombre de modèles murins de colite ont été développés. Ces modèles sont des outils indispensables pour déchiffrer les mécanismes sous-jacents de la pathogenèse des MICI ainsi que pour évaluer le potentiel thérapeutique d'une molécule. Parmi les produits utilisés chez les souris pour induire des colites, le Dextran Sulfate de Sodium (DSS) est largement utilisé en raison de sa simplicité d'administration et de la mise en place de symptômes proches de la maladie de Crohn chez l'Homme.

Le but de cette étude est de montrer l'efficacité d'un nouveau traitement pharmacologique anti-inflammatoire chez un modèle de souris. Dans ce contexte, nous avons testé l'efficacité de l'orexine (Orex), un neuropeptide pour lequel des travaux récents ont montré qu'il est capable de réduire les phénomènes inflammatoires notamment grâce à ses propriétés anti-TNF α .

Cette étude, dont le plan expérimental est schématisé dans le document 1, est réalisée chez la souris C57BL/6 mâle chez qui une inflammation chronique de l'intestin est induite par ajout de 3,5 % de DSS dans l'eau de boisson pendant 5 jours. La durée de l'étude est de 18 jours : 7 jours d'adaptation, 5 jours de traitement au DSS (J0 à J5) et 6 jours de récupération sans traitement (Souris DSS) ou avec traitement à l'orexine (Souris OREX) par injection intrapéritonéale. Un groupe témoin ne recevant ni DSS, ni orexine est réalisé (Souris Ct). Cette étude animale a été menée conformément à la législation européenne sur l'expérimentation animale et validée et approuvée par le Comité d'Éthique en Expérimentation Animale de l'INRAE.

Document 1 : Plan expérimental du traitement mis en place chez les souris C57BL/6



L'objectif de ce TP est donc d'étudier un modèle murin de mise en place de l'inflammation chronique de l'intestin par le DSS ainsi que l'efficacité du traitement à l'orexine. Pour chacun des trois groupes de souris (Ct, DSS et OREX), l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline intestinale sera déterminée et une quantification de l'expression d'un gène de la réponse immunitaire innée (le gène de l'IL-10) sera effectuée.

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 HISTOLOGIE DES CÔLONS

Des images d'histologie de coupes transversales de côlon sont disponibles dans le dossier candidat sur le bureau de l'ordinateur.

Ces images proviennent de côlons des trois groupes de souris présentés en introduction :

- Figure 1 : Coupe transversale de côlon issu de souris contrôle, n'ayant subi aucun traitement (souris Ct)
- Figure 2 : Coupe transversale de côlon issu de souris traitée au DSS (souris DSS)
- Figure 3 : Coupe transversale de côlon issu de souris traitée au DSS puis à l'orexine (souris OREX)

Des segments du côlon ont été prélevés et fixés (paraformaldéhyde 4 % pendant 24 h) puis conservés dans l'éthanol. Des coupes transversales ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline-éosine. L'hématoxyline est un colorant cationique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement, dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu/violet en se fixant sur les acides nucléiques. L'éosine est un colorant anionique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement, dits éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose/rouge plus ou moins vif selon leur acidophilie.

- Q1. À partir de l'image d'histologie de côlon de souris Ct (Figure 1), réaliser un schéma légendé des différentes couches de la paroi du côlon.**
- Q2. À partir de l'image d'histologie de côlon de souris DSS (Figure 2), décrire les conséquences de l'inflammation sur la structure de la paroi du côlon. En déduire les symptômes observables chez les souris traitées au DSS.**
- Q3. Une inflammation du côlon est caractérisée par l'infiltration de cellules immunitaires. A l'aide des observations précédentes, préciser la localisation de ces cellules immunitaires dans la paroi du côlon.**
- Q4. Commenter l'efficacité du traitement en vous appuyant sur l'analyse de l'ensemble des images d'histologie.**

PARTIE 2 : ANALYSE MOLÉCULAIRE DE L'EFFICACITÉ DU TRAITEMENT

Après lecture de l'ensemble du dossier technique :

- Q5. Pour chaque manipulation, indiquer les échantillons à traiter par le candidat et ceux déjà préparés.**
- Q6. Lister les manipulations qui requièrent l'usage de gants. Pour chacune, expliquer pour quelles raisons le port des gants est nécessaire.**

PARTIE 2.1 : EXTRACTION DES CELLULES DE COLON PAR GRATTAGE ET BROYAGE

La Fiche Technique 1 présente le mode opératoire du grattage des échantillons de côlon. Cette technique permet de récupérer les cellules de côlon pour ensuite les broyer/lyser dans un tampon adapté afin d'extraire les protéines et les ARN.

PARTIE 2.2 : DOSAGE ENZYMATIQUE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE INTESTINALE PAR CINÉTIQUE DEUX POINTS

La phosphatase alcaline (PAL) intestinale a un rôle bien établi dans le contrôle de l'inflammation intestinale. Les données récentes étendent ce rôle à plusieurs composés bactériens (flagelline, motifs CpG de l'ADN) et à divers nucléotides libres. La PAL participe directement à la résolution tissulaire de l'inflammation. Elle contribue indirectement à améliorer la fonction de barrière et à façonner le microbiote. Des défauts de phosphatase alcaline intestinale pourraient favoriser les maladies inflammatoires intestinales. En revanche, une activité phosphatase élevée dans le côlon est synonyme d'inflammation, en particulier du fait de l'infiltration du côlon par les neutrophiles qui contiennent l'isoforme tissulaire non spécifique de phosphatase alcaline.

La Fiche Technique 2 présente le protocole de dosage de l'activité enzymatique de la PAL.

- Q7. Présenter sous une forme appropriée les manipulations réalisées et les indications de mesure.**
- Q8. Justifier l'emploi de l'expression « cinétique deux points ».**

- Q9. Expliquer comment déterminer expérimentalement la durée maximale de 4 minutes pour cette mesure cinétique.**
- Q10. Indiquer le rôle de la solution d'arrêt et son fonctionnement.**
- Q11. Déterminer les vitesses initiales de réaction (v_i) des différents échantillons.**
- Q12. Définir une unité d'activité enzymatique (U). Déterminer la valeur de l'activité enzymatique dans 100 μ L de chaque échantillon (en U).**
- Q13. Valider les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons, à l'aide de la concentration d'activité catalytique obtenue pour la PAL commerciale.**

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

- Q14. Présenter sous une forme appropriée les manipulations réalisées et les indications de mesure.**
- Q15. Exploiter ces résultats pour déterminer l'activité spécifique (en $U \cdot g^{-1}$) dans chaque échantillon.**
- Q16. Conclure.**

PARTIE 2.3 : QUANTIFICATION DE L'EXPRESSION DE L'IL-10 LORS DE L'INFLAMMATION

Au cours de la réponse immunitaire innée, de nombreuses molécules, dont les cytokines, sont produites par le système immunitaire. Parmi les méthodes permettant de quantifier l'expression d'un gène, la RT-PCR quantitative est classiquement utilisée dans les laboratoires de recherche, de contrôle ou d'analyse (Fiches Techniques 5 et 6).

L'objectif est de réaliser, à partir des différents échantillons de côlon, une quantification relative des ARNm de l'interleukine 10 (IL-10). Le gène ARN 18S est utilisé comme gène de ménage.

A. Extraction des ARN

La Fiche Technique 4 présente le protocole d'extraction des ARN à partir des échantillons obtenus lors de l'étape de grattage.

B. Transcription inverse

- Q17. Calculer le volume de solution d'ARNm ainsi que le volume d'eau sans ARNase nécessaires pour chaque tube, lors de l'étape de transcription inverse.**

C. qPCR

- Q18. Indiquer la composition et le rôle du contrôle négatif pour le gène de ménage et pour l'IL10.**
- Q19. Donner la composition des master mix.**
- Q20. A l'aide d'un schéma correctement annoté, donner le principe de la PCR.**
- Q21. Définir le Ct (« cycle threshold ») et préciser le lien entre le Ct et la quantité d'ARNm présente dans l'échantillon.**
- Q22. Préciser l'intérêt de l'utilisation d'un gène de ménage.**
- Q23. A partir des Ct des différents échantillons, déterminer la quantité relative des ARNm de l'IL-10.**
- Q24. Conclure.**

PARTIE 3 : BILAN DE L'ÉTUDE

- Q25. Sachant que l'orexine est un anti-TNF α et que la quantité d'ARNm du TNF α est la même chez les souris Ct, DSS et OREX, proposer un mécanisme d'action de l'orexine permettant de justifier l'action de l'orexine sur l'expression de l'IL10.**
- Q26. Présenter un bilan permettant de faire le lien entre le contexte de l'étude et les résultats observés.**

Références :

1. Estaki M, DeCoffe D, Gibson DL. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 14;20(42):15650-6. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15650.PMID: 25400448
2. Messal N, Fernandez N, Dayot S, Gratio V, Nicole P, Prochasson C, Chantret I, LeGuilloux G, Jarry A, Couvelard A, Tréton X, Voisin T, Ogier-Denis E, Couvineau A. Ectopic expression of OX1R in ulcerative colitis mediates anti-inflammatory effect of orexin-A. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018 Nov;1864(11):3618-3628. doi: 10.1016/j.bbadis.2018.08.023. Epub 2018 Aug 18
3. Ramasamy S, Nguyen DD, Eston MA, Alam SN, Moss AK, Ebrahimi F, Biswas B, Mostafa G, Chen KT, Kaliannan K, Yammine H, Narisawa S, Millán JL, Warren HS, Hohmann EL, Mizoguchi E, Reinecker HC, Bhan AK, Snapper SB, Malo MS, Hodin RA. Intestinal alkaline phosphatase has beneficial effects in mouse models of chronic colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Feb;17(2):532-42. doi: 10.1002/ibd.21377. PMID: 20645323
4. Salvo Romero E, Alonso Cotoner C, Pardo Camacho C, Casado Bedmar M, Vicario M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2015 Nov;107(11):686-96. doi: 10.17235/reed.2015.3846/2015. PMID: 26541659
5. Vidal-Lletjós S, Andriamihaja M, Blais A, Grauso M, Lepage P, Davila AM, Gaudichon C, Leclerc M, Blachier F, Lan A. Mucosal healing progression after acute colitis in mice. *World J Gastroenterol*. 2019 Jul 21;25(27):3572-3589. doi: 10.3748/wjg.v25.i27.3572.PMID: 31367158

DOSSIER TECHNIQUE

Le dossier technique est distribué à côté du sujet.

ANNEXE 1

DONNÉES DE SÉCURITÉ

NaOH à 2 mol·L⁻¹



Danger

H314 Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

Réactif de Bradford



Danger

H314 Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

Aiguille de seringue – lame de scalpel

A éliminer dans une poubelle spécifique pour déchets coupants et piquants.

Ne pas essayer de replacer l'aiguille dans son embout en plastique.

Côlon de souris

Risque biologique

Le grattage est à réaliser sur un seul échantillon : côlon de souris traitées avec DSS puis orexine. Les autres échantillons (côlon de souris contrôle et côlon de souris traitées au DSS) ont déjà été préparés.

Une vidéo de la réalisation du grattage est disponible dans le dossier candidat sur le bureau de l'ordinateur (« vidéo grattage côlon »).

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PBS		700 µL en microtube

- 1 morceau de côlon d'une souris traitée avec DSS puis orexine, noté « côlon DSS Orex»
- 1 lame de scalpel
- 1 seringue
- 1 aiguille 25G
- 1 aiguille 21G
- 1 boîte de Petri
- 1 poubelle déchets biologiques et 1 poubelle coupant-tranchant
- 1 bac à glace
- Microtubes de 1,5 mL
- Microcentrifugeuses réglables

MODE OPÉRATOIRE

1. Mettre l'échantillon de côlon dans une boîte de Petri placée sur la glace.
2. Réaliser le grattage du côlon : maintenir l'extrémité du côlon en utilisant un cône de P1000, utiliser le dos d'une lame de scalpel pour extraire l'intérieur du côlon, en exerçant une pression du cône vers l'autre extrémité (voir « vidéo grattage côlon » sur l'ordinateur).
3. Placer l'extrait obtenu dans un tube contenant 500 µL de PBS.
4. Réaliser un broyage à la seringue par aspiration-refoulement (utiliser une P1000, puis une aiguille 21G puis une aiguille 25G et faire au moins 5 allers-retours à chaque fois).
5. Centrifuger 3 min à 14000 g.
6. Récupérer le surnageant dans un microtube de 1,5 mL.

Vous obtenez un tube « PAL Orex » utilisé dans la Fiche Technique 2 et 3.

L'échantillon PAL Orex a été obtenu lors du grattage de côlon (FT 1). Les échantillons PAL Ct et PAL DSS ont été préparés dans les mêmes conditions et sont fournis directement en tampon PBS.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PAL Ct	Extrait de côlon de souris contrôle en PBS	500 µL
PAL DSS	Extrait de côlon de souris traitées au DSS, en PBS	500 µL
PAL Orex	Extrait de côlon de souris traitées au DSS puis à l'orexine (obtenu dans la FT 1).	500 µL
pNPP	Para-nitrophénylphosphate 5 mmol.L ⁻¹ en tampon de réaction (DEA 5 mmol.L ⁻¹ + MgCl ₂ 0,5 mmol.L ⁻¹ , pH 9,8)	10 mL
PAL	PAL commerciale 0,100 U.mL ⁻¹ en tampon de réaction	500 µL
Solution d'arrêt	NaOH 2 mol.L ⁻¹ ; EDTA 4 mmol.L ⁻¹ ; pH 11	10 mL

- Bain thermostaté à 37°C
- Chronomètre
- Spectrophotomètre
- Microcuves visibles
- Tube à hémolyse

MODE OPÉRATOIRE

Réaliser une cinétique deux points pour chacun des échantillons et pour la solution contrôle de PAL commerciale, notée « PAL ».

Appeler l'examineur lors du déclenchement de la cinétique.

1. Introduire dans un tube à hémolyse 0,9 mL de pNPP.
2. Pré-incuber 5 min à 37°C.
3. Introduire 100 µL de l'échantillon.
4. Arrêter la réaction avec 500 µL de solution d'arrêt après une durée n'excédant pas 4 minutes.
5. Lire l'absorbance à 400 nm.

Données :

pH	5	7	9	11
Coefficient d'extinction molaire (mol⁻¹.cm⁻¹.L)	100	4200	16000	18000

Limites d'acceptabilité pour la solution contrôle de PAL : $L_{inf} = 0,085 \text{ U.mL}^{-1}$ et $L_{sup} = 0,115 \text{ U.mL}^{-1}$.

FICHE TECHNIQUE 3	DOSAGE DES PROTÉINES PAR LA MÉTHODE DE BRADFORD
-------------------	------------------------------------------------------------

Les échantillons seront testés dilués au 1/4 et au 1/10.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PAL Ct	Extrait de côlon de souris contrôle, en PBS	500 µL
PAL DSS	Extrait de côlon de souris traitées au DSS, en PBS	500 µL
PAL Orex	Extrait de côlon de souris traitées au DSS puis à l'orexine (obtenu dans la FT 1).	500 µL
SAB	Solution étalon de SAB diluée à 1 g·L ⁻¹	1 mL
Eau physiologique		30 mL
Réactif de Bradford		Distributeur réglé sur 1 mL

- Spectrophotomètre
- Chronomètre
- Microcuves visibles
- Parafilm
- Vortex

MODE OPÉRATOIRE

1. Réaliser en microcuves, une gamme de SAB allant de 0 à 0,8 mg.mL⁻¹, en eau physiologique et dans un volume final de 100 µL, avec la répartition suivante : 0 / 0,02 / 0,04 / 0,06 / 0,08 / 0,1 / 0,2 / 0,4 / 0,6 / 0,8 mg.mL⁻¹
2. Ajouter 1 mL de réactif de Bradford dans toutes les microcuves. Homogénéiser et incuber 15 minutes.
3. Lire l'absorbance à 590 nm contre un blanc réactif.

Appeler l'examineur pour la lecture au spectrophotomètre.

L'extraction d'ARNm est à réaliser sur un seul échantillon : côlon de souris traitées DSS puis orexine (souris OREX). L'extraction des ARN des autres échantillons (côlon de souris contrôle (souris Ct) et côlon de souris traitées DSS (souris DSS)) a déjà été réalisée.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
ARN Orex Extrac	Tube fourni (côlon gratté puis broyé dans de l'eau)	30 µL
RLT	Tampon de lyse pour extraction : RLT + DTT 0,04 mol.L ⁻¹	500 µL
Ethanol	Éthanol à 100%	300 µL en microtube
RW1	Tampon de lavage	800 µL en microtube
DNase I	DNase I	10 µL en microtube
RDD	Tampon spécifique de la DNase I	110 µL en microtube
RPE	Tampon de lavage	1200 µL en microtube
Eau ARN	Eau sans ARNase	200 µL en microtube

- 1 colonne de purification placée dans un tube de récupération de 2 mL
- Microtubes de 1,5 mL
- Microcentrifugeuses réglables
- 1 bécher pour les déchets liquides
- 1 poubelle déchets biologiques

MODE OPÉRATOIRE

1. Ajouter au tube ARN Orex extrac, 350 µL de tampon RLT puis 250 µL d'éthanol 100%. Mélanger par aspiration-refoulement.
2. Transférer la totalité de ce volume dans la colonne, placée dans un tube de récupération de 2 mL.
3. Centrifuger 15 s à 10000 rpm.
4. Garder la colonne et jeter le liquide présent dans le tube de récupération. Replacer la colonne dans le tube de récupération vidé.
5. Ajouter 350 µL de tampon RW1 dans la colonne.
6. Centrifuger 15 s à 10000 rpm.
7. Jeter le liquide présent dans le tube de récupération.

- 8.** Préparer la solution de DNase I en ajoutant 90 μL de RDD dans le tube DNase I.
- 9.** Ajouter 95 μL de solution DNase I + RDD délicatement au centre de la colonne. Incuber 15 min à température ambiante.
- 10.** Ajouter 350 μL de tampon RW1 dans la colonne.
- 11.** Centrifuger 15 s à une vitesse de 10000 rpm. Vider le tube de récupération.
- 12.** Ajouter 500 μL de tampon RPE dans la colonne.
- 13.** Retourner la colonne 2-3 fois.
- 14.** Centrifuger 15 s à une vitesse de 10000 rpm.
- 15.** Garder la colonne et jeter le liquide présent dans le tube de récupération.
- 16.** Ajouter 500 μL de tampon RPE dans la colonne.
- 17.** Centrifuger 2 min à une vitesse de 10000 rpm.
- 18.** Garder la colonne et jeter le liquide présent dans le tube de récupération.
- 19.** Centrifuger à nouveau 2 min à une vitesse de 10000 rpm.
- 20.** Placer la colonne sur un tube de récupération de 1,5 mL.
- 21.** Ouvrir la colonne et bien laisser sécher la membrane (3 à 5 minutes).
- 22.** Ajouter 30 μL d'eau sans ARNase, notée « eau ARN » Attendre 1 min à température ambiante.
- 23.** Centrifuger 1 min une vitesse de 10000 rpm. Ce tube sera appelé par la suite « ARN Orex ».

Dosage des ARNm :

Doser les ARN à l'aide du nanodrop en suivant le protocole mis à disposition à côté de l'appareil.

La transcription inverse est à réaliser sur l'ensemble des échantillons d'extractions d'ARNm.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
ARN Ct	ARN extrait de côlon de souris contrôle à 500 ng.µL ⁻¹	10 µL
ARN DSS	ARN extrait de côlon de souris traitées au DSS à 1000 ng.µL ⁻¹	10 µL
ARN Orex	ARN extrait de côlon de souris traitées au DSS puis à l'orexine (obtenu dans la FT 4).	30 µL
Amorce oligo-dT	50 µmol.L ⁻¹	10 µL
dNTP	10 mmol.L ⁻¹ chaque	10 µL
Eau ARN	Eau sans ARNase	200 µL en microtube
Tampon First-Strand	5X	15 µL
DTT	0,1 mol.L ⁻¹	10 µL
RT	ProtoScript II transcriptase inverse, 200 U.µL ⁻¹	4 µL

- Bloc chauffant + thermomètre à utiliser avec des microtubes de 1,5 mL
- Microtubes de 1,5 mL
- Microcentrifugeuses réglables
- Microcentrifugeuse de pailasse (non réglable)
- Chronomètre
- Glace

Protocole et composition du milieu réactionnel pour 1 tube.

Le volume final de milieu réactionnel est de 20 μL

Appeler l'examineur pour le pipetage d'un microvolume.

	Concentration ou quantité finale	Volume pour 1 tube
Eau ARN qsp 20 μL final	-	?
Amorce oligo-dT	5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$	2 μL
dNTP	0,5 mmol.L^{-1}	1 μL
ARN extrait	1 μg	?
Chauffer 5 min à 65°C, centrifuger puis placer dans la glace.		
Tampon First-Strand 5X	1X	4 μL
DTT	0,2 mmol.L^{-1}	2 μL
RT	200 U	1 μL
Incuber 50 min à 42°C puis 15 min à 70°C puis centrifuger. L'incubation à 70°C n'est pas nécessaire si la qPCR est réalisée immédiatement.		

La PCR est à réaliser sur les différents ADNc obtenus. Prévoir un contrôle négatif pour l'ARN 18S et l'IL-10.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Amorce IL10-F	0,015 nmol.μL ⁻¹	10 μL en microtube
Amorce IL10-R	0,015 nmol.μL ⁻¹	10 μL en microtube
Amorce ARN18S-F	0,015 nmol.μL ⁻¹	10 μL en microtube
Amorce ARN18S-R	0,015 nmol.μL ⁻¹	10 μL en microtube
Mix SYBR	2X, contient SYBR® Green, ADN polymérase III, dNTP, Tampon	100 μL en microtube
Eau BM	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	500 μL en microtube
Paraffine	Huile de paraffine	Flacon à demander

- Thermocycleur programmé
- Microcentrifugeuses réglables
- Microcentrifugeuse de paillasse (non réglable)
- Adaptateurs de centrifugeuse pour tubes de 0,2 mL à demander si besoin
- Microtubes (1,5 mL ; 0,2 mL)

MODE OPÉRATOIRE

Composition du milieu réactionnel pour 1 tube :

Réactifs	V (μL)
Eau BM qsp 10 μL	1,84
Amorce F	0,33
Amorce R	0,33
Mix SYBR	5
Échantillon à tester	2,5

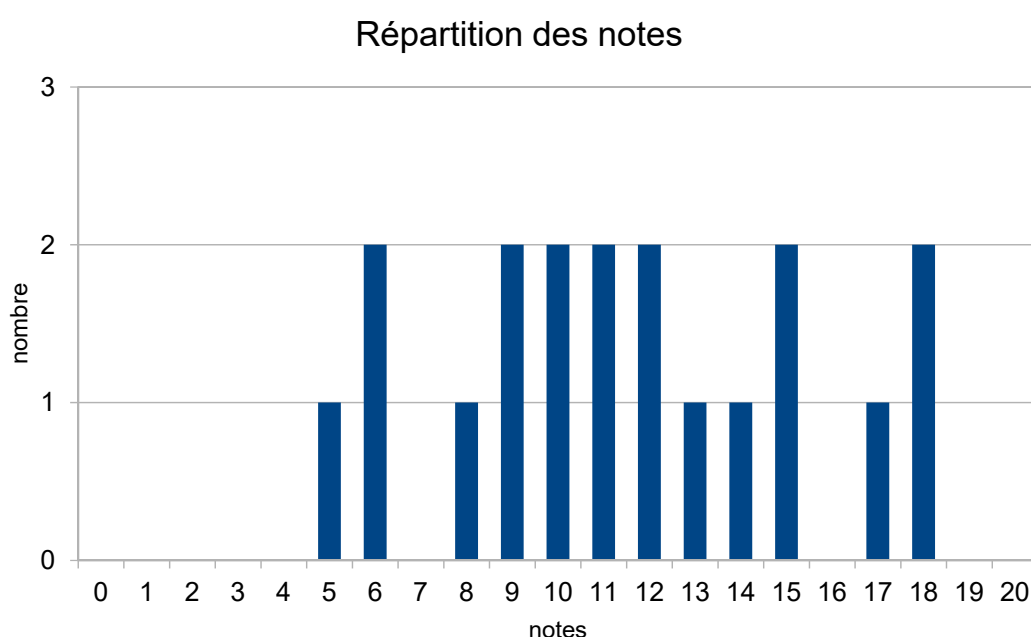
1. Préparer un master mix par couple d'amorces et pour l'ensemble des tubes, en utilisant le tableau ci-dessus.
2. Préparer chaque condition en microtube de 0,2 mL : 7,5 μL du master mix et 2,5 μL d'échantillon à tester.
3. Centrifuger, mettre une goutte de paraffine et couper le bouchon du tube.
4. Placer les tubes dans l'appareil de qPCR et remplir le plan de plaque associé à l'appareil.

RAPPORT DU JURY DE TP DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,76 / 20**
- Meilleure note : **18,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,00 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **68 %**
- Moyenne des candidats admis : **13,55 / 20**

Histogramme de répartition :



COMMENTAIRES GÉNÉRAUX SUR L'ÉPREUVE

Le sujet portait sur l'étude de l'efficacité d'un traitement anti-inflammatoire par l'orexine chez un modèle de souris pour lesquelles une inflammation chronique de l'intestin avait été induite par ingestion de Dextran Sulfate de Sodium (DSS).

Il s'agissait de caractériser certains paramètres de l'inflammation chez trois groupes de souris : des souris contrôles n'ayant subi aucun traitement (souris CONTRÔLE), des souris ayant développé une inflammation chronique de l'intestin suite à l'ingestion de DSS (souris DSS) et des souris inflammatoires traitées avec de l'orexine (souris OREX), molécule dont l'effet anti-inflammatoire devait être étudié. Pour cela il fallait réaliser :

- une comparaison histologique à partir de coupes transversales de côlon issues de ces trois groupes de souris,
- un dosage de l'activité de la phosphatase alcaline extraite des côlons de ces souris,
- une quantification relative de l'expression de l'IL10 par RT-qPCR.

Dans un premier temps, le jury souhaite féliciter les candidats qui ont globalement bien réussi cette épreuve, et ont, pour beaucoup, respecté les contraintes temporelles.

Comme toujours, il était important de gérer l'organisation des manipulations. Alors que la RT-qPCR nécessitait des temps d'attente importants (étape de transcription inverse et de PCR), il était optimal de commencer par cette technique et de réaliser les autres manipulations (grattage du côlon, mesure d'activité catalytique de la PAL et dosage des protéines), pendant les temps d'attente. Quelques candidats, peu nombreux, ont traité le sujet de manière linéaire ce qui ne leur a pas permis de réaliser l'ensemble des manipulations.

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. Les candidats devaient porter des lunettes de protection pour manipuler la soude ou le réactif de Bradford. Celle-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 la RT-qPCR 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 (Enzymologie et dosage des protéines). Trop de candidats pipettent de manière artistique et non conventionnelle. Rappelons qu'un pipetage doit être reproductible, que la pipette doit être tenue verticale, que le manipulateur doit visualiser le pipetage, et déposer le liquide contre la paroi du tube lorsqu'il s'agit d'un micropipetage. Ces recommandations restent valables lorsque l'examineur s'éloigne. Pour beaucoup de candidats ce geste simple est à travailler pour que les résultats soient de bonne qualité.

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...

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. Il peut être intéressant d'utiliser les fonctionnalités du tableur pour étirer les formules de calcul et gagner ainsi un temps précieux.

Le jury souhaite attirer l'attention des candidats sur le fait qu'il n'est pas toujours nécessaire d'avoir l'ensemble des résultats pour répondre aux questions.

PARTIE 1 : HISTOLOGIE DES CÔLONS

L'analyse histologique pouvait être traitée tout au long de l'épreuve mais il était préférable de ne pas commencer par cette partie

Ces analyses devaient aboutir à une meilleure compréhension des effets de l'inflammation sur le côlon et sur son fonctionnement. Les candidats étaient aussi amenés à réfléchir sur l'effet anti-inflammatoire de l'orexine, ce qui a été très bien réussi par nombre d'entre eux.

Le jury souhaite attirer toutefois l'attention sur la nécessité de réaliser des schémas propres et rigoureux (construction et légendes) Trop de candidats ont malheureusement faits des schémas grossiers sans utiliser des légendes rigoureuses.

PARTIE 2 : ANALYSE MOLÉCULAIRE DE L'EFFICACITÉ DU TRAITEMENT

L'objectif ici était de caractériser l'inflammation du côlon à l'aide de deux marqueurs et pour les trois types de souris présentés en introduction (souris CONTRÔLE, souris DSS et souris OREX).

Une partie des échantillons avait déjà été préparée, mais toutes les étapes ont été réalisées par les candidats avec au moins un échantillon. La question 5 visait à aider le candidat à comprendre et à s'organiser. S'y atteler avant la réalisation des manipulations pouvait être un avantage. Nous souhaitons insister sur le fait que le jury attendait une réponse à cette question sous forme d'un organigramme ou d'un tableau, ce qui permet une bien meilleure communication qu'une réponse par un long paragraphe.

Tableau récapitulatif des manipulations à réaliser et des échantillons à traiter :

	Échantillons	Souris CONTRÔLE	Souris DSS	Souris OREX
Dosage enzymatique de la PAL intestinale	Grattage des côlons et broyage des cellules	Fait	Fait	A réaliser
	Dosage enzymatique et dosage des protéines	A réaliser		
Quantification des ARNm	Grattage des côlons et broyage des cellules	Fait	Fait	Fait
	Extraction des ARNm	Fait	Fait	A réaliser
	Transcription inverse	A réaliser		
	qPCR	A réaliser		

De même, la question 5 portait sur l'analyse des risques pour l'ensemble des manipulations et visait à aider le candidat à bien identifier les différentes raisons pour lesquelles il fallait porter des gants :

- protection du manipulateur : risque biologique dans le cas du grattage / risque chimique lors de l'utilisation de la soude ou du réactif de Bradford
- protection de l'échantillon vis-à-vis des ARNases lors de l'extraction des ARN et de la transcription inverse.

PARTIE 2.1 : EXTRACTION DES CELLULES DE COLON PAR GRATTAGE ET BROYAGE

Une vidéo présentant le grattage du côlon était proposée aux candidats qui ont bien réussi à s'approprier ce geste pour la plupart inconnu. Les précautions ont été bien respectées.

PARTIE 2.2 : DOSAGE ENZYMATIQUE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE INTESTINALE PAR CINETIQUE DEUX POINTS

Pour les mesures d'activités catalytiques ainsi que pour le dosage des protéines, le protocole n'était pas complètement détaillé dans les fiches techniques, il est donc indispensable que les candidats indiquent sur leur compte rendu leur protocole détaillé afin que le correcteur n'ait aucun doute sur ce qui a été réalisé et dans quelles conditions.

Les tableaux et schémas clairs sont à privilégier. C'est une compétence importante pour un futur enseignant que d'être capable de restituer ainsi les manipulations réalisées (ou à réaliser).

La mesure de l'activité catalytique devait être faite par méthode 2 points, le temps de réaction enzymatique maximal de 4 minutes était donné dans la fiche technique.

Il était donc attendu que les candidats prévoient de réaliser deux mesures par échantillons, à deux temps réactionnels différents (par exemple 0 minutes et 4 minutes, ou bien 1 minute et 4 minutes, ...). Ces mesures en enzymologie dans lesquelles une série de tubes est à traiter, sont généralement faites en décalant les ajouts de réactifs d'un temps précis et suffisamment long pour s'organiser. Très peu de candidats avaient une maîtrise suffisante de cette technique de mesure leur permettant d'obtenir des résultats fiables. Les critères de réussite sont : un respect rigoureux du chronométrage, une homogénéisation réelle des échantillons à prélever et lors de chaque ajout de réactif (un mouvement de flux et reflux avec une pipette de 100 µL dans un volume d'1 mL ne suffit pas) et aussi une réaction qui se déroule bien à la température de travail indiquée par la fiche technique. De nombreux candidats, ont retiré leurs tubes, préalablement incubés dans un bain thermostaté à 37°C, lors de la réaction enzymatique ! Notons que cette même erreur a déjà été relevée dans le rapport de jury de l'année précédente.

Les calculs de vitesse initiale et d'activité catalytique (z) ont été réalisés correctement par une partie des candidats. Rappelons encore une fois la nécessité de rigoureusement vérifier les unités de chaque calcul. Les erreurs notées par le jury sont les suivantes :

- Certains candidats ont oublié le facteur de dilution réalisé lors de l'arrêt de la réaction enzymatique, n'utilisant que la loi de Beer Lambert. En cas d'ajout de réactif d'arrêt, l'équation aux grandeurs du calcul de la vitesse initiale est la suivante :

$$v_i = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\epsilon \times l} \times \frac{V_{ML}}{V_{MR}} \quad \text{où } V_{ML} = \text{est le volume de milieu de lecture}$$

et V_{MR} est le volume de milieu réactionnel

- Certains n'ont pas su expliquer ce qu'était une unité d'activité enzymatique, U. Même si cette unité n'est pas celle du système international, elle reste une unité usuelle qu'il faut maîtriser. Soit les candidats n'étaient pas capables d'indiquer que les unités d'activité enzymatique correspondent à une quantité d'enzyme et non pas à une vitesse, soit ils se trompaient dans la correspondance avec les unités de vitesse.

Il était demandé de valider les valeurs mesurées en vérifiant que la concentration catalytique de la PAL trouvée expérimentalement était bien comprise dans l'intervalle de validation donné sur la fiche technique. Peu de candidats ont traité cette question et parmi ceux qui l'ont fait, certains ont calculé l'activité théorique de la PAL commerciale ($Z_{PAL,théorique}$) afin de comparer à l'activité mesurée expérimentalement ($Z_{PAL,expé}$). Ce raisonnement était tout à fait possible mais nécessitait alors de recalculer l'intervalle de validation correspondant afin de pouvoir conclure. L'autre méthode consistait à calculer directement la concentration d'activité catalytique mesurée ($b_{PAL, expé}$) et à comparer cette valeur à l'intervalle de mesure.

Dans un second temps un dosage des protéines selon la méthode de Bradford était à mettre en œuvre, avec une gamme étalon de large étendue. Les résultats de ce dosage permettaient ensuite de normaliser les activités enzymatiques grâce au calcul de l'activité spécifique (Z_{sp}).

Il était donc attendu que les candidats repèrent et délimitent la zone linéaire de la gamme étalon à partir du graphe obtenu. Rappelons qu'il est possible de superposer 2 courbes sur un même graphe, en ne faisant une régression linéaire que sur les points alignés de la seconde courbe. Il est aussi attendu un regard critique de la part des candidats sur leurs résultats expérimentaux afin qu'ils éliminent d'eux même les points visiblement erronés. Les échantillons étaient à diluer au quart et au dixième, comme indiqué sur la fiche technique. Certains candidats n'ont pas dilué leurs échantillons. Obtenant alors des indications de mesures hors de la zone de linéarité. Il est alors très important de critiquer les résultats obtenus et d'indiquer qu'ils ne peuvent être exploités. Si le temps le permet et que les réactifs sont en quantité suffisante, il faut demander à refaire ces manipulations.

La gamme d'étalonnage allait de $0,02 \text{ g.L}^{-1}$ à $0,8 \text{ g.L}^{-1}$ dans un volume final de $100 \mu\text{L}$ et la solution étalon mère était une solution de SAB à 1 g.L^{-1} . Le jury a été surpris qu'aucun candidat ne pense à faire une dilution intermédiaire de la solution mère étalon. Préparer une solution fille diluée au $1/10^{\text{ème}}$ aurait eu l'avantage de réaliser des pipetages de 20 à $100 \mu\text{L}$ pour les 5 premiers points de gamme, alors que les candidats ont pipeté de 2 à $10 \mu\text{L}$ de la solution mère amplifiant ainsi les incertitudes liées à ces pipetages. Même si les résultats obtenus ont permis aux candidats d'exploiter les indications de mesures du dosage des protéines, l'alignement de ces points de gamme était généralement peu satisfaisant.

Du point de vue de la présentation des résultats, rappelons les critères importants qui doivent être systématiquement respectés : un tableau de valeurs dans lequel sont indiqués les grandeurs et leurs unités, la longueur d'onde de mesure. Une représentation graphique avec un titre satisfaisant, les grandeurs et les unités sur les graphes, un nuage de points NON reliés, et une droite de régression linéaire avec équation de droite et r^2 .

Les résultats obtenus permettaient d'observer que l'activité spécifique de la PAL augmente dans les échantillons issus de souris traitées au DSS par rapport aux souris contrôles, et redescend sensiblement pour les échantillons issus de souris traitées au DSS et à l'orexine, confirmant ainsi l'hypothèse d'une activité anti-inflammatoire de l'orexine.

PARTIE 2.3 : QUANTIFICATION DE L'EXPRESSION DE L'IL-10 LORS DE L'INFLAMMATION

L'objectif de cette partie était de réaliser, à partir des différents échantillons de côlon, une quantification relative des ARNm de l'interleukine 10 (IL-10). Le gène ARN 18S était utilisé comme gène de ménage.

Le jury rappelle la nécessité de manipuler avec précision et rigueur pour aboutir à des résultats cohérents. Des contrôles de fonctionnement et de contamination étaient attendus et devaient être analysés correctement pour valider la manipulation.

Un schéma correctement annoté du principe de la PCR était demandé. Il est fondamental d'orienter correctement les brins et les amorces, ce qui n'a été que trop rarement observé dans les copies des candidats.

Aux vues de la place croissante de la biologie moléculaire et de la PCR dans l'ensemble des domaines du vivant, les concepts de « cycle threshold » et de « gène de ménage » sont des notions indispensables à maîtriser pour de futurs enseignants de biotechnologie.

Le jury avait parfaitement conscience que la quantification relative n'est pas la méthode la plus étudiée et la plus maîtrisée. Le calcul présenté devait être cohérent et permettre de comparer l'expression de l'ARNm de l'IL-10 dans les différents échantillons en utilisant le gène de ménage pour la normalisation, ce qui a été très bien réalisé par quelques candidats.

BILAN SUR LES COMPÉTENCES ÉVALUÉES

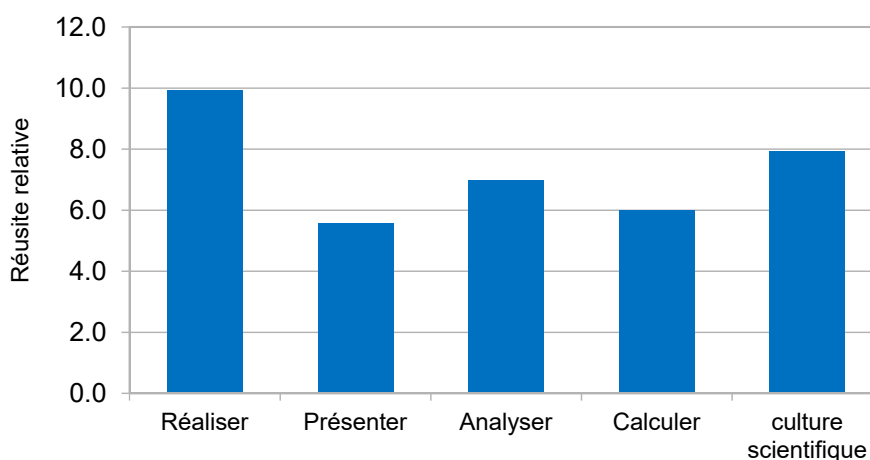
L'épreuve de cette année était conçue de telle sorte que les candidats avaient le temps de réaliser l'ensemble des manipulations et de rédiger une grande partie des réponses aux questions.

Cela se traduit sur le graphe ci-dessous par le fait que la compétence « réaliser » est la plus réussie que les années précédentes

On pourra regretter que la compétence « Présenter » soit la moins réussie. Il s'agit de la présentation des schémas, des tableaux de manipulations ou de résultats et de la communication écrite générale de la copie. Une présentation claire et rigoureuse de ces éléments est indispensable pour le métier d'enseignant.

Enfin des progrès sont encore à réaliser pour que la compétence « calculer » s'améliore encore. Pour progresser, c'est aussi la rigueur de la rédaction des calculs qui permet d'éviter les erreurs. L'utilisation des équations aux grandeurs, des équations aux unités et des équations aux valeurs numériques permet cette rigueur, elle permet une sorte de contrôle interne du calcul par recoupement de ces trois équations.

Réussite par compétence évaluée



En conclusion, le jury félicite les candidats pour leur engagement dans cette épreuve. Il encourage les futurs candidats à améliorer la présentation et les calculs.

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

CONSTRUCTION D'UNE BANQUE DE MUTANTS ALÉATOIRES ET CRIBLAGE MÉTABOLIQUE

INTRODUCTION

La construction d'une banque de mutants par génie génétique est un outil très répandu en recherche car elle permet d'identifier les éléments génétiques impliqués dans une fonction biologique spécifique. Les applications sont nombreuses : étude de facteurs de virulence, de voies métaboliques, de mécanismes de résistance aux antimicrobiens, etc. Par leur phénotype modifié, les mutants permettent des analyses différentielles par rapport aux souches sauvages. C'est sur ce principe que la réalisation d'un criblage phénotypique d'une banque de mutants permet d'identifier les gènes ou fonctions génétiques nécessaires à l'expression du ou des caractères phénotypiques d'intérêt.

La plupart du temps la banque de mutants bactériens est réalisée à l'aide d'un transposon capable de s'insérer aléatoirement dans le génome.

Nous vous proposons ici de réaliser, à petite échelle, les différentes étapes d'une expérience de construction et de criblage d'une telle banque de mutants :

Partie A : construction d'une banque de mutants aléatoires de *Yersinia pseudotuberculosis*,

Partie B : criblage d'un échantillon de la banque de mutants,

Partie C : caractérisation de l'effet de la mutation sur la croissance.

TRAVAIL DU PREMIER JOUR

Toutes les mesures d'absorbance devront être présentées à un examinateur.
Les milieux de culture à incuber seront laissés dans les cartons prévus à cet effet.

DONNÉES GÉNÉRALES

Suivi de population par « densité optique » (DO)

Les coefficients de correspondance concentration cellulaire (C_C) / « densité optique » (DO) pour les souches utilisées sont, à 600 nm :

$$C_C \text{ (} E. \text{ Coli ; 600 nm)} = 7,0 \cdot 10^7 \text{ bactéries} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ par unité DO}_{600}$$

$$C_C \text{ (} Yersinia \text{ ; 600 nm)} = 5,0 \cdot 10^7 \text{ bactéries} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ par unité DO}_{600}$$

La linéarité du spectrophotomètre à 600 nm dans les conditions expérimentales est vérifiée pour une suspension bactérienne dans l'intervalle $\text{DO}_{600} = [0,020 - 0,800]$.

Composition des milieux

Base M9 10X (1 L)

Na ₂ HPO ₄	60 g
KH ₂ PO ₄	30 g
NaCl	5 g
NH ₄ Cl	10 g
Eau ultrapure (désionisée)	qsp* 1 L

Milieu minimum (MM) sans ou avec casaminoacides pour culture liquide ou solide (1 L)

Base M9 10X	100 mL
CaCl ₂ 0,1 M	1000 µL
MgSO ₄ 0,1 M	20 mL
Glucose 20 %	50 mL
... + (optionnel) : Casaminoacides 10 %	100 mL
... + (optionnel) : Agar	15 g
Eau distillée	qsp* 1 L

Filtrer pour stériliser.

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 gélosé (agar 15 g · L⁻¹)

* qsp = quantité suffisante pour

MATERIEL GÉNÉRAL À DISPOSITION

Ordinateur
Calculatrice basique
Agitateur mécanique
Bac à glace
Bec Hoffmann
Billes de verre et pot de récupération des billes
Cuves pour spectrophotomètre
Cartons pour incubateur à 28°C et à 37°C
Lames et lamelles
Microscope
Microplaque 96 puits (de 200 µL de volume utile)
Microtubes de 1,5 et 2 mL stériles
Parafilm prédécoupé
Pincés
Pipettes automatiques P1000, P200, P20, P10 (ou P5) et cônes adaptés
Pipettes graduées stériles de 10 mL, 5 mL, 2 mL et 1 mL ; systèmes d'aspiration à roulette et propipette
Pipettes Pasteur stériles
Portoir de cuves
Spectrophotomètre
Tubes à essai stériles de 20 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes à hémolyse stériles de 10 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes d'eau physiologique stériles

PARTIE A

Construction d'une banque de mutants aléatoires de *Yersinia pseudotuberculosis*

On utilise une bactérie donneuse *Escherichia coli* « MFD » hébergeant le plasmide pSAM-AraC (voir carte génétique et fonctionnelle en annexe 1) portant le transposon *mariner Himar1* et une bactérie receveuse *Yersinia pseudotuberculosis*. Le transfert du plasmide pSAM-AraC est réalisé par conjugaison. L'arabinose est inducteur de la production de transposase. Dans ce sujet, on appelle transconjugants les *Yersinia pseudotuberculosis* ayant reçu le transposon par conjugaison. La souche MFD est auxotrophe pour l'acide diaminopymélique (DAP). La méthode permet d'obtenir une fréquence de conjugaison d'environ 10^{-5} en 3h00.

Souches

Culture d'*Escherichia coli* MFD (pSAM-AraC), 10 mL de LB + DAP + Carbenicilline en tube
Culture de *Yersinia pseudotuberculosis*, 10 mL de LB en tube

Solutions et milieux de culture

10 géloses LA
10 géloses LA + kanamycine
10 géloses LA + DAP + carbénicilline
1 gélose LA + DAP + arabinose
1 gélose LA + DAP
1 flacon de LB stérile de 100 mL

Matériel spécifique

Chronomètre
Microcentrifugeuse
Microtubes
2 filtres à pores de 0,22 μm
2 anses stériles

Les objectifs de la partie A sont :

- Réaliser la conjugaison entre *E. coli* et *Y. pseudotuberculosis*.
- Dénombrer les transconjugants obtenus, ainsi que la donatrice et la réceptrice.
- Calculer le pourcentage de conjugaison, avec et sans induction.

PROCÉDURE OPÉRATOIRE :

1. Préparation des inocula

Les 2 suspensions bactériennes en milieu LB doivent être préparées pour obtenir une concentration bactérienne comprise dans l'intervalle $[1,0-1,2] \cdot 10^8$ bactéries $\cdot \text{mL}^{-1}$.

2. Mise en contact

Déposer un filtre, avec sa protection jaune, sur une petite gélose stérile LA + DAP. Faire de même sur une petite gélose stérile LA + DAP + arabinose. Laisser la protection se soulever ; jeter la protection.

Déposer sur chaque filtre un mélange composé de :

- 100 μL d'*Escherichia coli*
- 100 μL de *Yersinia pseudotuberculosis*
- 100 μL de LB

Laisser 3h00 à température ambiante.

3. Récupération des bactéries issues de la conjugaison

Après incubation, inonder la membrane avec 500 μL de LB. À l'aide d'une anse, décoller le dépôt bactérien et l'homogénéiser. Récupérer l'ensemble du liquide disponible dans un microtube.

4. Dénombrements

Réaliser les dilutions en séries décimales, sur microplaque. Déposer 100 μL de chaque dilution sur géloses et homogénéiser avec des billes – le choix des géloses doit remplir les objectifs de la partie. Les dénombrements sont réalisés en simple essai.

COMPTE-RENDU

- A.1.** Expliquer le rôle de la conjugaison réalisée sur gélose LB + DAP sans arabinose.
A.2. Préciser l'effet des additifs sur les différentes souches : kanamycine, DAP, carbénicilline.
A.3. Établir l'équation aux grandeurs permettant de déterminer le pourcentage de conjugaison.
A.4. En analysant la carte du plasmide, expliquer en quoi les caractéristiques du plasmide pSAM-AraC en font un outil de mutagenèse approprié pour la construction d'une banque de mutants chez *Yersinia*.
A.5. Schématiser le principe de construction d'un mutant de cette banque.
A.6. Indiquer par quelle autre méthode que la conjugaison il serait possible d'obtenir la même banque avec le même plasmide.

PARTIE B

Criblage d'un échantillon de la banque de mutants

Un échantillonnage de la banque de mutants est proposé sur microplaque. Vous disposez de 20 mutants aléatoires issus de la conjugaison.

Souches

Extrait de la banque de mutants de *Y. pseudotuberculosis*, en microplaque (lignes A et B). Chaque mutant est identifié par les coordonnées de sa cupule (ex : mutant A3 ou mutant B2, etc.).

Solutions et milieux de culture

- 1 gélose milieu minimum (MM) en boîte carrée
- 1 gélose MM + casaminoacides en boîte carrée
- 1 gélose LA en boîte carrée

Les objectifs de la partie B sont :

- Réaliser une étude différentielle des capacités de croissance des différents mutants.
- Identifier les mutants métaboliques d'intérêt.

DONNÉES SPÉCIFIQUES À LA PARTIE B

Organisation de la plaque 96 puits fournie

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	Souche sauvage	Mutant A2	Mutant A3	Mutant A4	Mutant A5	Mutant A6	Mutant A7	Mutant A8	Mutant A9	Mutant A10
B	Mutant B1	Mutant B2	Mutant B3	Mutant B4	Mutant B5	Mutant B6	Mutant B7	Mutant B8	Mutant B9	Mutant B10

Casaminoacides

Les casaminoacides sont obtenus par hydrolyse de la caséine. Ils contiennent l'ensemble des acides aminés ainsi que de rares peptides courts.

PROCÉDURE OPÉRATOIRE

Pour la caractérisation des mutants, des dépôts seront réalisés en spot de 2 µL par pipetage inverse – le geste doit être montré à l'examineur.

COMPTE-RENDU

- B.1.** Présenter les résultats types que l'on peut obtenir suite à ce criblage.
B.2. Indiquer pour chacun de ces résultats un exemple de fonction touchée.
B.3. Estimer la proportion de chacun des types de résultats.
B.4. Indiquer si tous les mutants possibles sont dans la banque.

PARTIE C

Caractérisation de l'effet de la mutation sur la croissance

On s'intéresse à un mutant, créé selon le protocole de la partie A et criblé en partie B, nommé 10A7. On veut caractériser plus en détail son phénotype déficitaire.

Souches

Souche sauvage de *Yersinia pseudotuberculosis*

Mutant 10A7 de *Yersinia pseudotuberculosis*

Solutions et milieux de culture

Arginine à $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

Milieu minimum (MM) 100 mL

Milieu minimum + casaminoacides 20 mL

Milieu LB 100 mL (le même qu'en partie A)

6 Géloses LA

Matériel spécifique

4 tubes stériles de 50 mL

Portoirs pour tubes 50 mL

Bain d'eau agité à 28°C

Les objectifs de la partie C sont :

- Vérifier l'effet de la mutation sur la croissance de la souche mutée.
- Contrôler le coefficient de correspondance fourni dans le début du sujet pour *Yersinia* souche sauvage.

PROCÉDURE OPÉRATOIRE

Le suivi de croissance sera réalisé en tube de 50 mL dans un volume de milieu de 15 mL.

Le démarrage de la croissance s'effectue avec une suspension à environ $0,5 \cdot 10^7$ bactéries $\cdot \text{mL}^{-1}$.

Déterminer le temps de génération de la souche mutée en milieu minimum, en milieu minimum contenant $0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ d'arginine, et en milieu minimum + casaminoacides.

Réaliser un contrôle de croissance de la souche sauvage en milieu minimum.

La croissance se fait à 28°C sous agitation. Mesurer la DO à intervalles réguliers pendant 3h30.

À partir de l'*inoculum* de départ, réaliser un dénombrement pour contrôler le coefficient de correspondance fourni dans le début du sujet pour *Yersinia* souche sauvage.

COMPTE-RENDU

C.1. Indiquer comment préparer le milieu MM + arginine à $0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

C.2. Expliquer pourquoi la croissance en milieu MM suffit pour la souche sauvage.

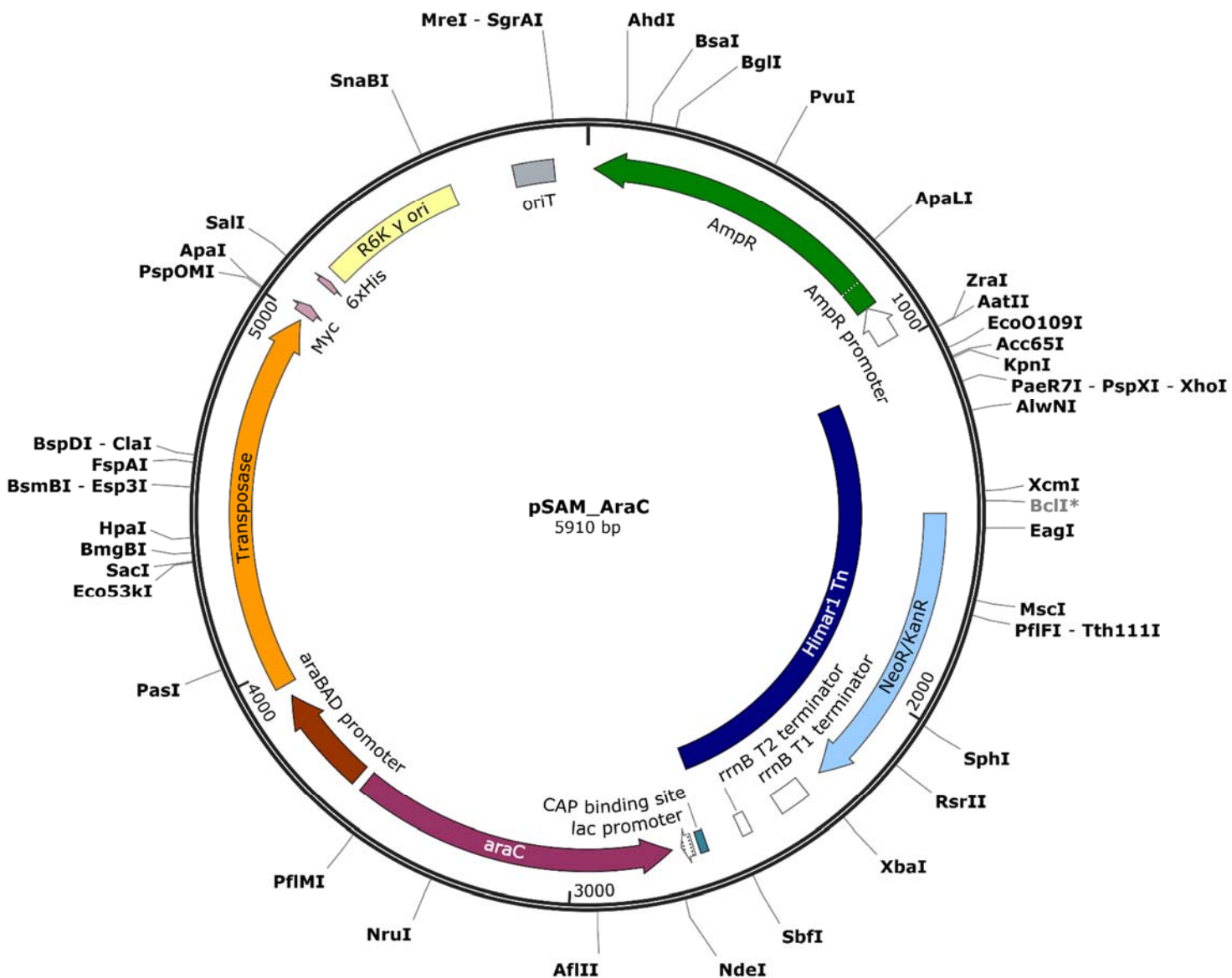
C.3. Représenter graphiquement le suivi des croissances sur ordinateur.

C.4. Interpréter les résultats obtenus.

ANNEXE 1 – carte du plasmide

Légende :

- R6K γ ori indique l'origine de réplication dépendante de la fonction *pir* absente chez *Yersinia*.
- La flèche NeoR/KanR indique le gène de résistance à la kanamycine.
- La flèche AmpR indique le gène de résistance à l'ampicilline et la carbénicilline.
- OriT indique l'origine de transfert par conjugaison du plasmide.
- *araBAD* indique la région promotrice sous contrôle de l'arabinose.
- *rrnB* T1 et T2 sont des terminateurs de transcription.



TRAVAIL DU DEUXIÈME JOUR

Le mutant en B10 de la partie B est en réalité le mutant 10 A7 étudié en partie C.

PARTIE D

Exploitation des résultats du premier jour

Contrôler l'aspect microscopique du mutant 10A7 en réalisant un état frais. Montrer un champ représentatif à l'examineur, commenté par écrit.

COMPTE-RENDU

D.1. Compléter le tableau de l'annexe 2 avec les résultats obtenus en parties A, B et C.

D.2. Une fois ce tableau rempli et rendu, analyser les résultats alors fournis en répondant aux objectifs du premier jour.

PARTIE E

Stratégie d'analyse génétique des mutants

Lorsque le phénotype d'un mutant correspond à un déficit jugé intéressant, on recherche le site d'insertion du transposon. Une méthode astucieuse permettant d'accéder à la séquence concernée est alors mise en œuvre. Les annexes 3 à 6 présentent la stratégie suivie et les résultats obtenus pour le mutant 10A7.

COMPTE-RENDU

E.1. Expliquer l'**originalité** du principe de fonctionnement de la PCR en 5 étapes (annexe 3).

E.2. Expliquer la présence des 3 bandes dans le puits 17 (annexe 3.3).

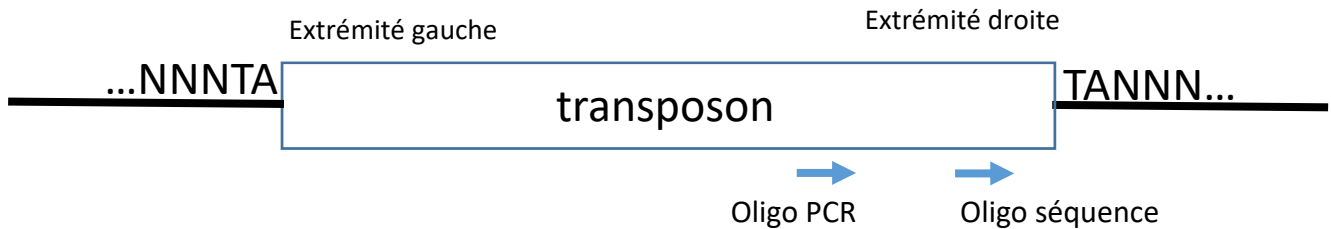
E.3. À l'aide des annexes 3 à 6, indiquer les dix nucléotides à gauche et à droite du site d'insertion du transposon.

E.4. Proposer un test simple permettant de vérifier le site d'insertion du transposon.

E.5. À partir des résultats fournis et des annexes 4 à 6, expliquer les phénotypes du mutant 10A7 obtenus en partie B et C.

ANNEXE 3 – Polymérisation en chaîne à l'aide d'un oligonucléotide spécifique du transposon

Annexe 3.1 : Représentation schématique du transposon inséré dans le génome de *Yersinia*

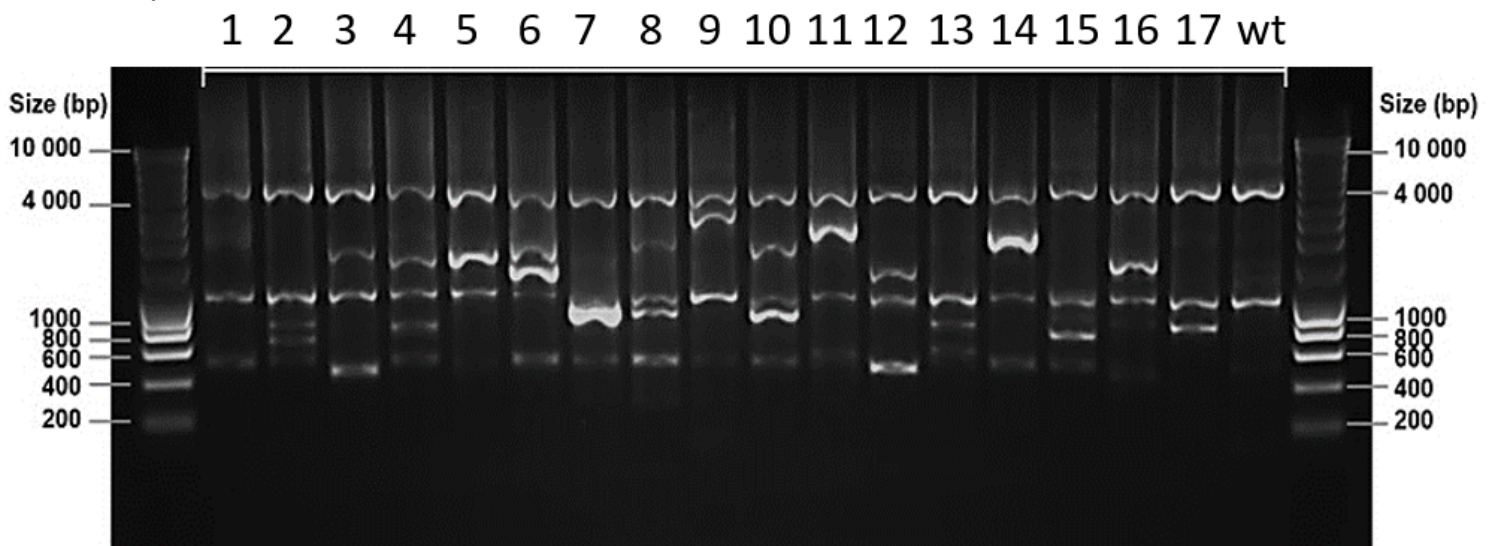


Annexe 3.2 : Programme des cycles de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) réalisée, à l'aide d'un seul oligonucléotide (Oligo PCR), sur 17 transconjugants issus de la partie A.

La PCR est constituée de 5 étapes :

- 1^{ère} étape : 1 cycle à 98 °C, 10 min
- 2^{ème} étape : 20 cycles [95 °C, 30 sec. ; 55 °C, 30 sec. ; 72 °C, 3 min]
- 3^{ème} étape : 30 cycles [95 °C, 30 sec. ; 30 °C, 30 sec. ; 72 °C, 2 min]
- 4^{ème} étape : 30 cycles [95 °C, 30 sec. ; 55 °C, 30 sec. ; 72 °C, 2 min]
- 5^{ème} étape : 1 cycle à 72 °C, 7 min

Annexe 3.3 : résultat de l'électrophorèse des produits de la PCR réalisée sur les 17 transconjugants (1 à 17) et la souche sauvage (wt) ayant servi de souche réceptrice dans la partie A.



ANNEXE 4 - Séquence nucléotidique obtenue pour le clone 10A7 avec l'oligonucléotide « séquençage » sur le produit de la PCR réalisée avec l'oligonucléotide « PCR ».

Clone 10A7

5'-CGGACTGGCTTTCTACGTGTTCCGCTTCCTCAATTGCTCGAGGGCGCGCCAAGCAGAAGACGGCATACG
AAGACCGGGGACTTATCATCCAACCTGT**TA**TATCGTGAGAAACATGAGCGCCCGCTTGTGATTATGCACGGTG
GTGGCTGTCTGGTGGACGAATTGATGAAAAGACTCGCCTTGCCAGTAGTGAAGAAGAACGGCCTGCGCGT
CACCCCGCTGATCAGATTGATATCATTACTGGCGCACTGGCGGGTACCGCGAATAAAACGCTCTTGGCTTG
GGCGGTGAAACATCAGATCAATGCTGTTGGCTTGTGCCTGGCTGATGGTAATACTGTGACGGTACTCTGC
TGGATGCTGAATTGGGCCACGTGGGTAAAGCGCAACCGGGTTCTGCGGCACTGGTACAACTTTGTTGGC
GGCAGTTATATGCCAATCATCAGCTCAATTGGTATTACTGTTGA-3'

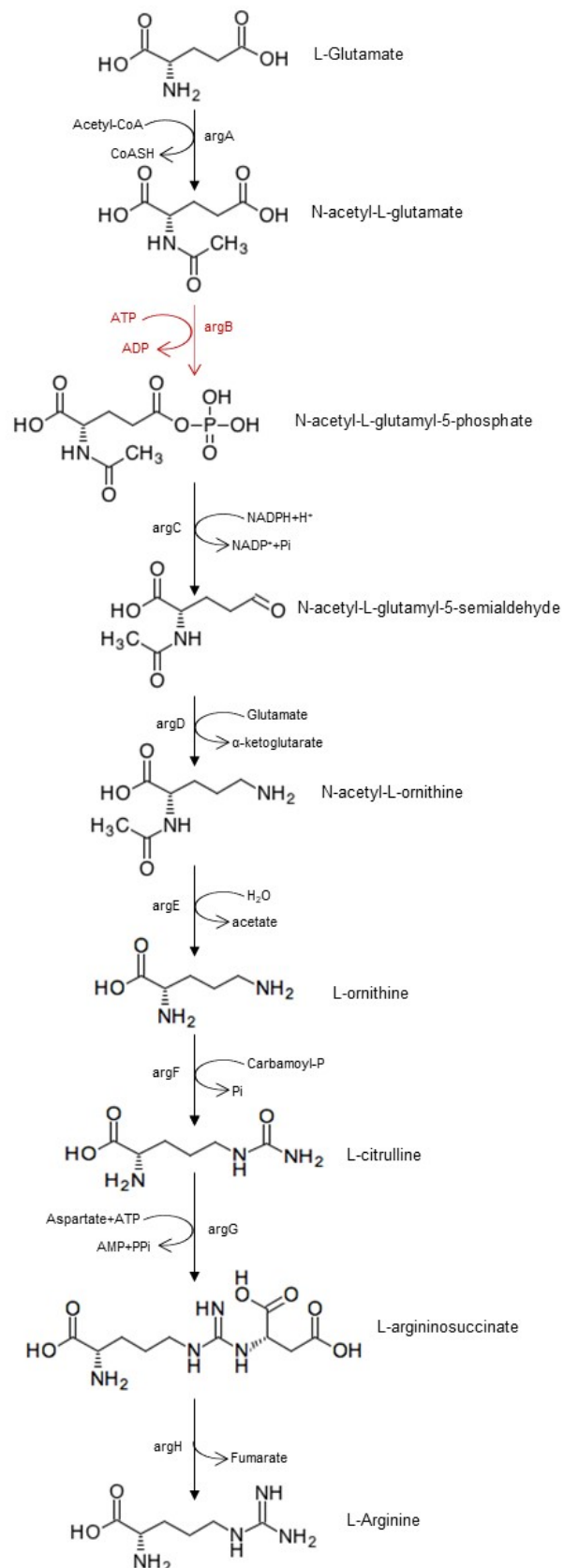
L'extrémité droite du transposon est soulignée, le dinucléotide **TA** correspond au site de reconnaissance de la transposase.

ANNEXE 5 - **argB** : gène codant une acétylglutamate kinase

5'-**ATG**ATGAACCCGTTGGTCATTAAATTAGGTGGCGTATTGCTGGACAGCGAAGAAGCACTG
GAACGCCTGTTTACTGCATTGGTGACC**TAT**CGTGAGAAACATGAGCGCCCGCTTGTGATT
ATGCACGGTGGTGGCTGTCTGGTGGACGAATTGATGAAAAGACTCGCCTTGCCAGTAGTG
AAGAAGAACGGCCTGCGCGTCACCCCGCTGATCAGATTGATATCATTACTGGCGCACTG
GCGGGTACCGCGAATAAAACGCTCTTGGCTTGGGCGGTGAAACATCAGATCAATGCTGTT
GGCTTGTGCCTGGCTGATGGTAATACTGTGACGGTACTCTGCTGGATGCTGAATTGGC
CACGTGGGTAAAGCGCAACCGGGTTCTGCGGCACTGGTACAACTTTGTTGGCGGCAGGT
TATATGCCAATCATCAGCTCAATTGGTATTACTGTTGAAGGGCAATTGATGAATGTAAT
GCCGATCAAGCGGCAACCGCATTAGCAGCAACGCTCGGTGCTGATTTAATCTTATTGTCC
GATGTCAGTGGCATTCTCGATGGTAAAGGGCAGCGGATTGCTGAAATGACGGCGCAAAAA
GCAGAGCAATTAATCGCTCAGGGCATCATCACCGATGGTATGGTCGTCAAAGTGAATGCG
GCACTGGATGCCGCGCTTCATTAGGTGCCCCGGTTGATATCGCCAGTTGGCGTCATTCT
GAGCAACTCCCCGCACTGTTCAACGGTGTACCGATTGGTACGCGTATTTCCGGT**TAA**-3'

ANNEXE 6 - Voie de la synthèse de l'arginine

(Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). *KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. Nucleic acids research*, 28(1), 27-30.)



PARTIE A

Conjugaison avec arabinose	Dilutions						
Milieu							
LA							
LA + Kana							
LA + DAP + carbénicilline							
Conjugaison sans arabinose	Dilutions						
Milieu							
LA							
LA + Kana							
LA + DAP + carbénicilline							

PARTIE B

Milieu MM										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A										
B										
Milieu MM + casaminoacides										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A										
B										
Milieu LA										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A										
B										

PARTIE C

Suspension utilisée :

Volume déposé par boîte :

Dilution						
UFC						

PARTIE A

Conjugaison avec arabinose		Dilutions					
Milieu	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
LA				IND	189	22	1
LA + Kana	IND*	46	3				
LA + DAP + carbénicilline				IND	95	14	0
Conjugaison sans arabinose		Dilutions					
Milieu	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
LA				IND	217	18	2
LA + Kana	13	0	0				
LA + DAP + carbénicilline				IND	107	9	0

* : IND = indénombrable

PARTIE B

Milieu MM										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
B	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Milieu MM + casaminoacides										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Milieu LA										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : croissance visible

- : pas de croissance visible

PARTIE C

À partir d'une suspension de *Yersinia* ajustée à 1,0 de DO₆₀₀, on a réalisé des dilutions décimales en série, et un étalement de 100 µL sur LA avec deux boîtes par dilution ; on obtient les résultats suivants :

Dilution	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
UFC	IND	24	1
	IND	18	4

RAPPORT DU JURY DE TP DE MICROBIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,00 / 20**
- Meilleure note : **18,00 / 20**
- Note la plus basse : **04,00 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **58 %**
- Moyenne des candidats admis : **13,55 / 20**

Le sujet proposait de reparcourir, à petite échelle, les différentes étapes d'une expérience de construction et de criblage d'une banque de mutants obtenus par un astucieux système génétique de conjugaison-transposition ; les activités proposées étaient ainsi, en jour 1 :

- Partie A :** construction d'une banque de mutants aléatoires de *Yersinia pseudotuberculosis*, et analyse du dispositif génétique permettant d'obtenir ces mutants,
- Partie B :** criblage d'un échantillon de la banque de mutants,
- Partie C :** caractérisation de l'effet de la mutation sur la croissance.

Et en jour 2 :

- Partie E :** stratégie d'analyse génétique des mutants

COMMENTAIRES GENERAUX

À PROPOS DU FONCTIONNEMENT DU JURY

Cette année pour l'évaluation, le jury a utilisé 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, en biologie moléculaire.
- Analyser des données et exploiter des résultats, en microbiologie.
- Calculer.
- Réinvestir ses savoirs.

Cette approche a permis de classer finement les candidats entre eux grâce à des descripteurs variés couvrant l'ensemble de ces compétences essentielles. Si le travail au poste est évidemment évalué par l'examineur en charge de la salle, les résultats obtenus ont été évalués – et les copies ont été corrigées – 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 puis les ont rendus, et ont ensuite exploité des résultats types. De cette manière, les erreurs du premier jour, déjà sanctionnées, n'ont pas eu de répercussion sur l'évaluation du deuxième jour.

À PROPOS DES CANDIDATS

La majorité des candidats organisent et gèrent correctement leur poste de travail ; les bonnes pratiques sont majoritairement respectées, et le bec électrique convenablement utilisé. Néanmoins, quelques candidats ont stocké des souches ou des contenants en plastique trop près du bec, nécessitant l'intervention du jury. De même, l'utilisation du microscope est généralement correcte. Le pipetage inverse demandé en partie B est maîtrisé par la majorité des candidats.

Des calculs basiques posent des difficultés : quelques candidats ignorent comment effectuer une dilution simple ($20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \rightarrow 0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) ce qui n'est pas admissible à ce niveau de concours. Par ailleurs, il faut soigner la présentation des calculs plus complexes. Par exemple, certaines explications d'ajustement de densité optique sont difficilement compréhensibles. Il faut travailler leur présentation pour que le jury puisse rapidement comprendre quels sont les choix faits et les données exploitées. Ces calculs doivent être explicitement présentés, et aussi didactiques que possible, selon l'adage que « ce qui se conçoit bien s'énonce clairement ».

Le vocabulaire afférent aux types trophiques est trop souvent martyrisé : « prototrophe » devient « autotrophe » ; « auxotrophe » devient « hétérotrophe ».

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 demander de l'aide au jury en cas de doute.

Lors du passage au spectrophotomètre, il convient d'homogénéiser les suspensions tout en respectant les conditions d'hygiène et de sécurité. Il faut impérativement effectuer plusieurs retournements successifs de la cuve correctement parafilmée.

PARTIE A

Construction d'une banque de mutants aléatoires de *Yersinia pseudotuberculosis*

On utilisait une bactérie donneuse *Escherichia coli* « MFD » auxotrophe pour l'acide diaminopymélique (DAP) et hébergeant le plasmide pSAM-AraC, et une bactérie receveuse *Yersinia pseudotuberculosis*. Le transfert du plasmide pSAM-AraC était réalisé par conjugaison. Dans ce système, l'arabinose est inducteur de la production de transposase. Dans ce sujet, on appelait transconjugants les *Yersinia pseudotuberculosis* ayant reçu le transposon par conjugaison.

Les objectifs de la partie A étaient :

- Réaliser la conjugaison entre *E. coli* et *Y. pseudotuberculosis*.
- Dénombrer les transconjugants obtenus, ainsi que la donatrice et la réceptrice.
- Calculer le pourcentage de conjugaison, avec et sans induction.

COMMENTAIRES :

La technique ne présentait pas de difficulté particulière et était présentée dans le sujet. La sélectivité de cette première partie reposait sur deux aspects :

- La nécessité de bien s'organiser – en effet, la transconjugaison demandait trois heures et devait donc être commencée tôt, ou bien les candidats devaient faire le choix de raccourcir cette durée (en le signalant) pour mener la procédure à terme avec le risque d'obtenir moins de transconjugués.
- La complexité du système génétique utilisé et donc de l'utilisation des différents milieux proposés – en effet, le système repose sur : le transfert par conjugaison, l'induction de la transposase, la non-réplication du plasmide chez la receveuse *Yersinia* et la non transposition de la transposase qui permet d'obtenir une seule mutation par clone transconjugué. Les milieux proposés permettent de cribler chacun des intervenants de la transconjugaison : donneur, receveur et transconjugué.

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

- L'analyse de la carte du plasmide utilisé a été incomplète. Le plasmide a souvent été assimilé à un simple vecteur type vecteur de clonage. En particulier, les deux antibiotiques utilisés ne jouent pas un rôle équivalent : cela a échappé à beaucoup de candidats.
- La transposition, lorsqu'elle a été présentée, a souvent été schématisée comme une recombinaison homologue – ce qu'elle n'est pas.
- La non-compréhension du système génétique utilisé a entraîné une mauvaise intégration des milieux proposés. Ceci a abouti à deux comportements diamétralement opposés : soit leur non-utilisation, soit au contraire l'utilisation aveugle de tous les milieux proposés sans réelle stratégie.
- La dilution opérée lors du dépôt (100 µL par souche) puis de la récupération des bactéries sur le support (500 µL), au cours de la transconjugaison, a été quasi-systématiquement négligée par les candidats dans leurs calculs de dénombrements. Un schéma général de la manipulation aurait facilement permis de gérer cette difficulté.
- Le choix des dilutions en vue des dénombrements supposait de tenir compte des données techniques : concentration cellulaire estimée par mesure de la densité optique, taux attendu de transconjugaison. Beaucoup de candidats ontensemencé leurs dilutions sans tenir compte de ces valeurs, soit en ensemençant sans réflexion toutes les boîtes de 10^0 à 10^{-7} voire 10^{-10} , soit en choisissant des dilutions non adaptées.
- Les calculs de dénombrements sont assez variables d'un candidat à l'autre ; la formule normalisée (type AFNOR) lorsqu'elle est utilisée ne l'est pas toujours correctement. Le jury n'attendait pas de méthode de calcul particulière, mais quelle que soit la formule utilisée, au niveau de l'agrégation ces calculs doivent être maîtrisés.
- Les pourcentages de conjugants ont été calculés de manière variée : rapportés à la souche donneuse, receveuse, ou les deux. Le jury a accepté toutes ces propositions du moment qu'elles étaient correctement exposées.

RÉSULTATS PROPOSÉS EN JOUR 2 :

Conjugaison avec arabinose	Dilutions							
Milieu	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
LA					IND	189	21	1
LA + Kana	IND*	46	3					
LA + DAP + carbénicilline					IND	150	14	1

* : IND = indénombrable

Conjugaison sans arabinose	Dilutions							
Milieu	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
LA					IND	207	18	2
LA + Kana	13	0	0					
LA + DAP + carbénicilline					IND	157	20	1

PARTIE B

Criblage d'un échantillon de la banque de mutants

Un échantillon de la banque de mutants (19 mutants aléatoires issus de la conjugaison) et une souche sauvage de référence étaient proposés sur microplaque.

Les objectifs de la partie B étaient :

- Réaliser une étude différentielle des capacités de croissance des différents mutants.
- Identifier les mutants métaboliques d'intérêt.

COMMENTAIRES :

Plusieurs candidats ont renoncé à cette partie, pourtant la plus simple à réaliser techniquement, comme à analyser. Il n'y avait aucun effort de conception : les trois milieux étaient explicitement proposés et la technique se limitait à une série organisée de micro-dépôts sur chacun de milieux. Il est possible que l'expression « étude différentielle » n'a pas été comprise. Il n'y avait pourtant que peu de façons d'utiliser la liste du matériel proposé et les dépôts étaient explicitement demandés.

Le sujet demandait en jour 1 d'envisager les résultats possibles et les fonctions biologiques possiblement touchées. Des résultats aberrants ne devaient pas être proposés, comme par exemple une culture sur milieu minimum mais pas sur LB. Cette question permettait de mettre en évidence les candidats ayant compris les différents génotypes qui peuvent être obtenus lors de la construction de la banque.

En jour 2, il était attendu une double validation : la souche *Yersinia* sauvage cultive bien sur tous les milieux y compris le milieu minimum, et tous les clones cultivent sur milieu LB. Ces validations n'ont pas toujours été correctement présentées.

RÉSULTATS PROPOSÉS EN JOUR 2 :

Milieu MM :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
B	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Milieu MM + casaminoacides :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Milieu LA :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : croissance visible

- : pas de croissance visible

PARTIE C

Caractérisation de l'effet de la mutation sur la croissance

On s'intéressait à un mutant, créé selon le protocole de la partie A et criblé en partie B, nommé 10A7. On cherchait à caractériser les conséquences du phénotype muté sur les capacités de croissance.

Les objectifs de la partie C étaient :

- Vérifier l'effet de la mutation sur la croissance de la souche mutée.
- Contrôler le coefficient de correspondance fourni dans le début du sujet pour *Yersinia* souche sauvage.

COMMENTAIRES :

Cette troisième partie proposait deux difficultés :

- La durée de croissance demandée (3h30) imposait de s'organiser pour lancer très rapidement les cultures, ou bien de faire le choix de raccourcir cette durée.
- La préparation des *inocula* nécessitait à la fois un lavage des souches pour se débarrasser du milieu de culture riche initial (une partie des croissances devant être réalisées en milieu minimum supplémenté ou non) et un ajustement de la densité optique ce qui demandait un travail de conception qui, dans le temps imparti, permettait de sélectionner les candidats.

En revanche, la vérification du coefficient de correspondance proposée dans le sujet n'a pas posé de problème dans l'ensemble.

Le lancement des croissances a été lent dans la plupart des cas, et n'a pas permis de suivre la croissance sur toute la durée demandée ; cependant les candidats ont le plus souvent bien géré cette difficulté en raccourcissant la durée de l'étude sans renoncer à l'analyse globale ; cette adaptabilité est une bonne réaction.

La quasi-totalité des candidats n'a pas effectué le lavage initial des souches. En conséquence, un volume non négligeable de milieu riche (LB) a supplémenté les milieux minimums. Ceci a masqué les différences attendues de croissance. Néanmoins, l'analyse des résultats restait possible et a été valorisée si elle était cohérente avec les résultats obtenus.

Comme dit plus haut, le calcul simple de dilution au 1/100^{ième} de l'arginine n'aurait pas dû poser de problème ; la réponse de l'un des candidats (« un certain volume ») n'est pas du niveau attendu pour le concours.

L'exploitation graphique des données, évaluée dans sa forme indépendamment du fond des croissances obtenues, a été assez inégale :

- Le jury attend des candidats que l'outil numérique tableur soit maîtrisé et que les attendus classiques d'un traitement graphique soient respectés : titre, échelle et légende des axes, légende des tracés.
- Il semble plus judicieux, pour comparer des croissances, de les tracer sur le même graphique plutôt que séparément, même si ce n'est pas rédhibitoire.
- Les paramètres cinétiques d'une croissance (μ ou G) s'établissent à l'aide d'une linéarisation logarithmique. Les candidats devaient proposer ce traitement. Quelques confusions entre les deux logarithmes (népérien, décimal) n'ont cependant pas été sanctionnées, les versions d'Excel ayant été évolutives dans leur dénomination ; c'est bien la démarche analytique et non la maîtrise parfaite du logiciel qui a été évaluée.

RÉSULTATS PROPOSÉS EN JOUR 2 :

À partir d'une suspension de *Yersinia* ajustée à 1,0 de DO₆₀₀, on a réalisé des dilutions décimales en série, et un étalement de 100 µL sur LA avec deux boîtes par dilution ; on obtient les résultats suivants :

Dilution	10⁻⁵	10⁻⁶	10⁻⁷
UFC	IND	45	4
	IND	52	4

Le deuxième jour, le sujet indiquait que le mutant en B10 de la partie B était en réalité le mutant 10A7 étudié en partie C.

PARTIE D (jour 2)

Exploitation des résultats du premier jour

Les candidats devaient relever leurs résultats sur un support déjà formaté fourni, pendant une durée limitée. Puis les résultats fournis (présentés plus haut au fil du rapport) étaient proposés à l'interprétation. Enfin, il était demandé de contrôler l'aspect microscopique du mutant 10A7 en réalisant un état frais ; dans l'ensemble ce geste technique de base a été correctement effectué.

PARTIE E (jour 2)

Stratégie d'analyse génétique des mutants

La fin du sujet proposait de s'intéresser à des mutants dont le phénotype correspondait à un déficit jugé intéressant, afin de rechercher le site d'insertion du transposon. Une méthode astucieuse exposée dans les annexes fournies permet d'accéder à la séquence concernée.

La PCR proposée, originale, n'a jamais été tout-à-fait comprise par les candidats. La plupart ont bien vu qu'une seule amorce était utilisée ou bien que la PCR comprenait plusieurs phases dont une de faible stringence (basse température d'hybridation), mais sans faire le lien entre ces deux données. Il fallait comprendre que l'unique amorce pouvait s'hybrider en sens inverse de manière non-spécifique en cas de faible stringence. S'hybridant également spécifiquement sur le transposon, l'amplification d'un fragment d'ADN comprenant à la fois une partie du transposon et une partie du génome au niveau du site d'insertion devient possible alors qu'une seule amorce est utilisée.

Le gel a été lu plutôt correctement, même si bien souvent les candidats n'ont pas pris le temps de d'abord formaliser l'analyse du profil de la souche sauvage qui constituait ici le profil contrôle (non muté). Ce profil contrôle comprenait deux bandes d'amplifications obtenues systématiquement grâce à l'étape de faible stringence.

Le reste de la partie, lorsqu'elle a été traitée, n'a pas posé de problème ; il était attendu de faire le lien avec les résultats obtenus pour les parties B (et C quand elle n'avait pas été ratée).

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

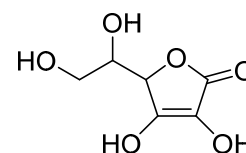
Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

UN PEU DE VITAMINE C POUR BIEN COMMENCER LES ÉPREUVES D'ADMISSION

La 5-(1,2-dihydroxyéthyl)-3,4-dihydroxyfuran-2-one, présentée ci-contre est plus communément appelée acide ascorbique. L'énantiomère L est la forme naturellement présente dans les fruits et légumes frais, et est appelée vitamine C.



Ce sujet se compose de deux parties. La première s'attache à la synthèse d'un complexe métallique et à son analyse exploitant les propriétés réductrices de l'acide ascorbique. La deuxième partie propose une étude des différentes propriétés de la vitamine C.

L'énoncé comporte 13 pages dont 1 page de garde et 5 pages d'annexes en fin de sujet.

I. Synthèse et analyse d'un complexe

L'ion ferrioxalate est un complexe composé de l'ion Fe^{3+} et d'ions oxalate $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$. Ce complexe a été largement utilisé en tant qu'actinomètre chimique, c'est-à-dire un composé permettant de mesurer un flux d'énergie lumineuse en suivant l'avancement de sa réaction de photodégradation. Pour la suite du sujet, on retiendra que le complexe est sensible à la lumière et qu'il doit être conservé dans un récipient opaque.

1. Synthèse du ferrioxalate de potassium trihydraté $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

Protocole de synthèse du complexe :

Dissoudre 12,0 g d'oxalate de potassium monohydraté dans 20 mL d'eau distillée puis porter à reflux en utilisant un réfrigérant à air (réfrigérant à boules sans circulation d'eau).

Appeler un examinateur pour vérifier le montage mis en place.

Additionner à l'aide d'une ampoule de coulée 8 mL d'une solution de chlorure de fer(III) à $2,5 \text{ mol.L}^{-1}$.

Agiter une minute et refroidir le mélange à l'aide d'un bain eau/glace.

Après précipitation totale, réaliser une filtration sur Büchner et laver le solide avec 3 fois 10 mL d'eau glacée. Placer un papier filtre sur le solide et presser à l'aide d'un tapon.

Sécher le solide à l'étuve à 90°C .

1. Proposer un schéma légendé du montage réalisé lors de la synthèse.
2. Proposer un schéma légendé du montage réalisé lors de la filtration.
3. Expliquer pourquoi le lavage du solide se fait avec de l'eau glacée.
4. Expliquer comment effectuer le suivi du séchage du solide à l'étuve.
5. Ecrire l'équation de la réaction de dissolution de l'oxalate de potassium monohydraté.
6. Donner la formule de l'ion ferrioxalate et écrire l'équation de la réaction de formation du ferrioxalate de potassium trihydraté.
7. Indiquer la masse de produit brut sec obtenu et déterminer le rendement de la synthèse.

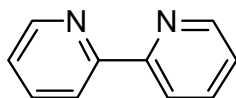
2. Analyse du ferrioxalate de potassium trihydraté $K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3 H_2O$

Dans cette partie on se propose de vérifier la teneur en ions fer(III) et oxalate du ferrioxalate de potassium.

a) Information sur la quantité de matière d'ions Fe(III) d'un échantillon de ferrioxalate de potassium

Afin de vérifier la quantité d'ions fer(III) dans une masse donnée de complexe, un dosage spectrophotométrique par étalonnage externe est réalisé.

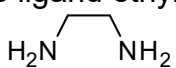
Pour cela, les ions Fe(III) d'un échantillon de ferrioxalate sont quantitativement réduits en ion Fe(II) puis complexés par des ligands bipyridine. Le complexe coloré de formule $[Fe(II)(bipy)_3]^{2+}$ est ensuite dosé.



Structure de la bipyridine

8. Justifier le caractère bidenté de la bipyridine et indiquer la géométrie autour du fer(II).

Le terme « chélate » est utilisé pour désigner les complexes mettant en jeu des ligands polydents. Ces chélates sont en général plus stables que leurs homologues mettant en jeu des ligands monodents analogues : c'est l'effet chélate. Les données ci-dessous apportent un éclairage sur l'origine de cet effet.

Réaction de complexation	Grandeurs de réaction
$[Cu(H_2O)_6]^{2+} + en = [Cu(en)(H_2O)_4]^{2+} + 2 H_2O$ <i>en</i> désigne le ligand éthylènediamine : 	$\Delta_r H^\circ = -54 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ $\Delta_r S^\circ = + 23 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$
$[Cu(H_2O)_6]^{2+} + 2 NH_3 = [Cu(NH_3)_2 (H_2O)_4]^{2+} + 2 H_2O$	$\Delta_r H^\circ = - 46 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ $\Delta_r S^\circ = - 8,4 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$

9. Quel est le nom des grandeurs $\Delta_r H^\circ$ et $\Delta_r S^\circ$?

10. Commenter les valeurs indiquées pour ces grandeurs et proposer une explication à l'effet chélate.

11. Donner un exemple de chélate jouant un rôle dans le monde du vivant.

Protocole de dosage des ions fer(III) :

Préparer une solution de ferrioxalate de potassium en pesant exactement une masse m_x d'environ 120 mg du ferrioxalate de potassium trihydraté **fourni** dans une fiole jaugée de volume $V_1 = 250$ mL et compléter la fiole avec de l'eau déminéralisée.

Prélever à l'aide d'une pipette jaugée un volume $V_2 = 2,00$ mL de cette solution et l'introduire dans une fiole jaugée de volume $V_3 = 50$ mL.

Ajouter ensuite, dans l'ordre indiqué, 5 mL d'eau distillée, 15 mL d'une solution de bipyridine à 0,1 % en masse (la solution peut rosir), 300 mg d'acide ascorbique (intégralité du contenu du pilulier mis à votre disposition, le rinçage est inutile), 5 mL d'acide chlorhydrique à 1 mol.L⁻¹.

Attendre une dizaine de minutes et ajouter 1,5 g d'éthanoate de sodium (intégralité du contenu du pilulier mis à votre disposition, le rinçage est inutile).

Attendre une dizaine de minutes et compléter à 50 mL avec de l'eau distillée.

Mesurer l'absorbance de la solution à 520 nm.

Appeler un examinateur avant d'effectuer la mesure.

12. Etablir l'équation de la réaction entre les ions ferrioxalate et l'acide ascorbique en tenant compte de la présence de la bipyridine.
13. Déterminer la quantité d'ions fer(III) initialement introduite dans la fiole de 50 mL et vérifier que l'acide ascorbique et la bipyridine sont introduits en excès.

L'équation de la droite d'étalonnage liant l'absorbance à 520 nm d'une solution de complexe $[\text{Fe(II)(bipy)}_3]^{2+}$ et la concentration C en mol.L⁻¹ de ce complexe est : $A = 8971.C + 0,0015$.

14. Proposer une méthode permettant de déterminer expérimentalement la longueur d'onde de travail.
15. En expliquant sommairement le principe de la spectroscopie UV-visible, expliquer le lien entre la couleur du complexe $[\text{Fe(II)(bipy)}_3]^{2+}$ et son spectre d'absorption.
16. Représenter sur un diagramme énergétique simplifié une transition électronique mise en jeu lors de l'absorption.
17. Indiquer la valeur de l'absorbance mesurée sur votre copie et déterminer la concentration en complexe $[\text{Fe(II)(bipy)}_3]^{2+}$ pour la solution de volume V_3 .
18. Vérifier la cohérence du résultat avec la masse m_x .
19. Un réducteur classique des ions fer(III) est l'ion hydroxylammonium. Préciser l'intérêt de la vitamine C par rapport à l'utilisation de chlorure d'hydroxylammonium.

b) Information sur la quantité de matière d'ions oxalate d'un échantillon de ferrioxalate de potassium

Afin de vérifier la quantité d'ions oxalate dans une masse donnée de complexe, un titrage par les ions permanganate est réalisé.

Les solutions de permanganate de potassium non fraîchement préparées présentent un dépôt marron.

20. Expliquer pourquoi il est préférable d'étalonner une solution aqueuse de permanganate de potassium avant de l'utiliser comme solution titrante. La justification inclura une équation de réaction en milieu neutre.

Protocole d'étalonnage de la solution de permanganate de potassium :

Dans un erlenmeyer de 100 mL peser exactement une masse m d'oxalate de potassium monohydraté d'environ 0,15 g et le dissoudre dans 25 mL d'eau distillée.

Ajouter 10 mL d'une solution d'acide sulfurique de concentration 3 mol.L⁻¹.

Titre par la solution de permanganate de potassium fournie (concentration notée C_{KMnO_4} d'environ 0,02 mol.L⁻¹) en commençant par introduire rapidement 15 mL de solution de permanganate de potassium.

Ajouter une pointe de spatule de chlorure de manganèse(II) et attendre la décoloration.

Poursuivre le titrage et relever le volume V versé à l'équivalence.

Appeler un examinateur pour contrôler la lecture.

21. Proposer un schéma légendé du montage réalisé pour le titrage.
22. Etablir l'équation de la réaction support du titrage réalisé mettant en jeu les couples $\text{MnO}_4^- / \text{Mn}^{2+}$ et $\text{CO}_2 / \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$.
23. Déterminer sa constante d'équilibre et conclure sur son utilisation en tant que réaction support de titrage.
24. Un chauffage du milieu réactionnel à 60°C est une alternative à l'utilisation du chlorure de manganèse lors de ce titrage. En déduire le rôle des ions manganèse.
25. Indiquer la masse m d'oxalate de potassium monohydraté pesée et le volume versé à l'équivalence sur votre copie. Calculer la concentration exacte de la solution de permanganate de potassium fournie.
26. Exprimer le résultat du titrage sous la forme d'un intervalle en tenant compte d'une incertitude élargie relative de 1,0%.

Protocole de titrage des ions oxalate :

Répéter le mode opératoire précédemment décrit pour l'étalonnage de la solution titrante en remplaçant l'oxalate de potassium par une masse exacte m_y de ferrioxalate de potassium trihydraté **fourni** d'environ 0,15 g et relever le volume V_y versé à l'équivalence.

Appeler un examinateur pour contrôler la lecture.

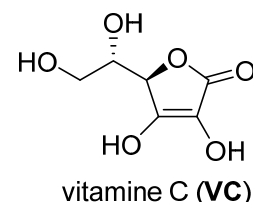
27. Indiquer sur votre copie la masse m_y et le volume V_y versé à l'équivalence. Vérifier la cohérence du volume V_y avec la masse m_y .

II. Chimie de la vitamine C

La partie expérimentale a mis à profit les propriétés réductrices de l'acide ascorbique. Le but de cette partie est d'étudier quelques autres aspects de la vaste chimie de la vitamine C. Faisant notamment partie du *pool chiral*, elle peut à ce titre être utilisée pour la synthèse de réactifs chiraux.

1. Structure et propriétés chimiques

La vitamine C, représentée ci-contre, désigne l'isomère de l'acide ascorbique rencontré dans les produits naturels (orange, kiwi, etc.). C'est un composé de formule brute $C_6H_8O_6$ que l'on notera **VC**.



a) Propriétés acides de la vitamine C

La première acidité de **VC** correspond à un pK_A de 4,2.

28. Indiquer l'atome d'hydrogène impliqué dans la première acidité et justifier à l'aide de formules mésomères.

Une carence en acide ascorbique peut causer le scorbut, maladie dont étaient victimes les marins, ces derniers ne pouvant pas bénéficier d'une alimentation diversifiée donc d'un apport suffisant en vitamine C. Ascorbique signifie d'ailleurs « sans scorbut ».

Un site internet de vente de compléments alimentaires préconise pour lutter contre les carences la prise quotidienne d'un gramme de vitamine C en poudre dissoute dans un verre d'eau.

29. En considérant que le verre contient 20 cL d'eau, déterminer le pH de la solution préparée.

30. Indiquer la forme acido-basique majoritaire de la vitamine C dans la solution préparée ? dans la bouche et l'estomac ?

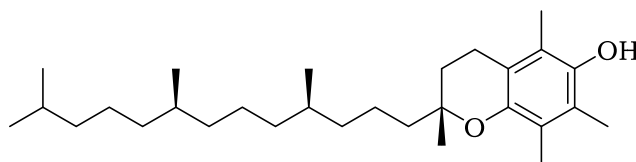
b) Propriétés réductrices de la vitamine C

La vitamine C a dans l'organisme mais aussi dans les produits de consommation un rôle antioxydant. Elle est capable de piéger les radicaux libres indésirables en particulier les radicaux libres dérivés de l'oxygène comme le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ ou le radical hydroxyle HO^{\cdot} .

31. Indiquer quelle réactivité chimique doit posséder un antioxydant.

32. Préciser la définition du terme radical et expliquer pourquoi les radicaux sont des espèces oxydantes.

Il existe d'autres inhibiteurs de radicaux telle la vitamine E :



Si la vitamine C réagit avec les radicaux formés dans les milieux aqueux que sont les cellules et le plasma sanguin, la vitamine E agit sur les radicaux générés dans les membranes non polaires.

33. Proposer une explication à cette différence.

c) La vitamine C, un composé chiral

34. Indiquer les carbones asymétriques de l'acide ascorbique. En déduire combien il existe de stéréoisomères de configuration de l'acide ascorbique. Les représenter, en utilisant la représentation de Cram et en indiquant les relations de stéréoisométrie entre eux.
35. Repérer la vitamine C parmi les stéréoisomères représentés à la question précédente. Expliquer pourquoi il s'agit d'une molécule chirale et déterminer les descripteurs stéréochimiques (configuration absolue) de ses carbones asymétriques.

La vitamine C est parfois désignée sous le nom acide L-(+)-ascorbique.

36. Expliquer ce que signifie la notation (+).

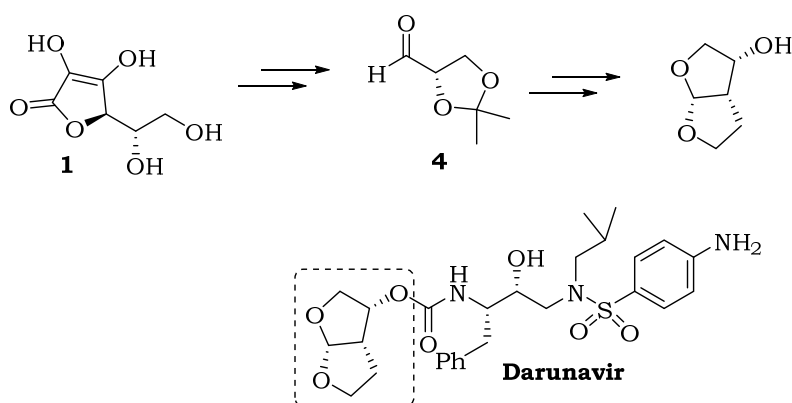
d) Analyse spectrale de la vitamine C

Trois spectres de la vitamine C sont fournis en annexe 4. Chacun correspond à l'une des techniques spectroscopiques suivantes : spectre de masse (impact électronique à 75 eV), spectre infrarouge (IRFT sur cellule diamant) et spectre RMN ^{13}C (eau deutérée, 25 MHz, avec découplage du proton en bande large).

37. Indiquer à quel type de spectroscopie correspond chacun des spectres notés A, B et C. Justifier.
38. Pour chaque spectre, donner un argument permettant de l'attribuer à la vitamine C.
39. Proposer une interprétation à la valeur relativement faible du nombre d'onde de 1654 cm^{-1} sur le spectre C.

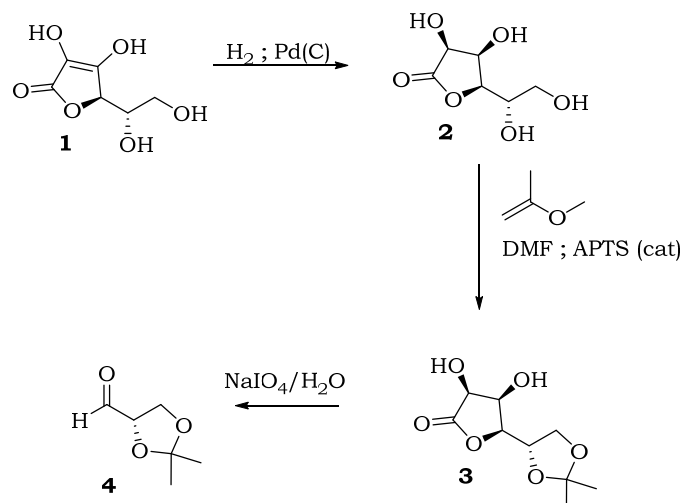
2. La vitamine C pour l'obtention de molécules thérapeutiques

Le Darunavir est le principe actif du Prezista®, médicament pouvant être mis en œuvre dans le cadre des trithérapies pour le traitement du VIH. C'est un inhibiteur de la protéase du VIH (protéase nécessaire à la reproduction du virus). La vitamine C constitue une source de chiralité peu onéreuse pour la synthèse de ce composé peptidomimétique possédant de nombreux centres asymétriques, comme illustré par la synthèse présentée ci-après.



D'après Hubschwerlen C., *Synthesis*, **1986** (11), p. 962-964 et
Li J. J., Johnson D. S., *Modern Drug Synthesis*, Wiley, **2010**

Cette partie s'intéresse à la synthèse du précurseur chiral **4** à partir de la vitamine C **1** :



40. La transformation chimique **1** \rightarrow **2** est une *réduction stéréosélective*. Justifier, pour cette réaction, l'utilisation de ces deux qualificatifs.
41. Justifier la stéréosélectivité observée.
42. Indiquer le nom de la nouvelle fonction chimique introduite lors de la transformation chimique **2** \rightarrow **3**.

Le DMF (N,N-diméthylformamide) est le solvant ; il n'intervient pas dans le mécanisme. L'APTS (acide paratoluène sulfonique) est un acide organique qui sert de catalyseur ; il peut être symbolisé par un ion H^+ dans l'écriture d'un mécanisme réactionnel.

43. Proposer un mécanisme réactionnel modélisant la transformation chimique **2** \rightarrow **3**.

Le periodate de sodium NaIO_4 permet de réaliser des oxydations.

44. Comparer l'électronégativité de l'iode et de l'oxygène. Proposer une formule de Lewis de l'ion periodate IO_4^- .
45. A l'aide de la théorie VSEPR, en déduire la structure tridimensionnelle de cet ion.
46. La transformation **3** \rightarrow **4** est appelée *coupure oxydante*. Justifier l'emploi de ces deux termes.
47. Une étape ultérieure, non mentionnée ici, permet de revenir aux deux fonctions alcools à partir de l'acétal. En déduire quel a été l'intérêt de la transformation **2** \rightarrow **3**.
48. Préciser l'intérêt d'avoir utilisé comme réactif la vitamine C pour synthétiser le composé **4**.

ANNEXE 1 : Données de sécurité et masses molaires

Substances ou mélanges	Classes et catégories de danger	Formule brute et masse molaire
Oxalate de potassium monohydraté	Toxicité aiguë, Orale, Catégorie 4 Toxicité aiguë, Dermale, Catégorie 4 Irritation oculaire, Catégorie 2	$K_2C_2O_4 \cdot H_2O$ M=184,2 g.mol ⁻¹
Solution de chlorure de fer(III) à 2,5 mol.L ⁻¹	Mélange corrosif pour les métaux, Catégorie 1 Toxicité aiguë, Orale, Catégorie 4 Irritation cutanée, Catégorie 2 Lésions oculaires graves, Catégorie 1	$FeCl_3$ M=162,2g.mol ⁻¹
Ferrioxalate de potassium trihydraté	Toxicité aiguë, Orale, Catégorie 4 Toxicité aiguë, Dermale, Catégorie 4	$K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$ M=491,3 g.mol ⁻¹
Solution de bipyridine à 0,1 % en masse	Pas de danger	$C_{10}H_8N_2$ M=156,2 g.mol ⁻¹
Acide ascorbique	Pas de danger	$C_6H_8O_6$ M=176,1 g.mol ⁻¹
Acide chlorhydrique à 1 mol.L ⁻¹	Pas de danger	HCl M=36,5 g.mol ⁻¹
Ethanoate de sodium	Pas de danger	$NaC_2H_3O_2$ M=82,0 g.mol ⁻¹
Solution de permanganate de potassium à 0,02 mol.L ⁻¹	Toxicité aiguë pour le milieu aquatique, Catégorie 1 Toxicité chronique pour le milieu aquatique, Catégorie 1	$KMnO_4$ M=158,0 g.mol ⁻¹
Acide sulfurique à 3 mol.L ⁻¹	Corrosion cutanée, Catégorie 1 Lésions oculaires graves, Catégorie 1	H_2SO_4 M=98,1 g.mol ⁻¹
Chlorure de manganèse(II)	Toxicité aiguë, Orale, Catégorie 3 Lésions oculaires graves, Catégorie 1 Toxicité spécifique pour certains organes cibles (cerveau) à exposition répétée, Catégorie 2	$MnCl_2$ M=125,8 g.mol ⁻¹
Chlorure d'hydroxylammonium	Substance corrosive pour métaux, Catégorie 1 Irritation oculaire, Catégorie 2 Irritation cutanée, Catégorie 2 Sensibilisation cutanée, Catégorie 1 Cancérogénicité, Catégorie 2 Toxicité aiguë, Orale et cutanée, Catégorie 4 Lésions oculaires graves, Catégorie 1 Toxicité spécifique pour certains organes cibles (rate) à exposition répétée, Catégorie 2 Toxicité aiguë pour le milieu aquatique, Catégorie 1	NH_3OHCl M= 69,5 g.mol ⁻¹

ANNEXE 2 : Données physico-chimiques à 25°C

Potentiels standards d'oxydoréduction :

$$E^\circ(\text{MnO}_4^- / \text{MnO}_2) = 1,68 \text{ V}$$

$$E^\circ(\text{MnO}_4^- / \text{Mn}^{2+}) = 1,51 \text{ V}$$

$$E^\circ(\text{H}_2\text{O} / \text{H}_2) = 0,0 \text{ V}$$

$$E^\circ(\text{O}_2 / \text{H}_2\text{O}) = 1,23 \text{ V}$$

$$E^\circ(\text{CO}_2 / \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4) = -0,49 \text{ V}$$

$$\text{Pour l'acide ascorbique: } E^\circ(\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6 / \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = 0,13 \text{ V}$$

pK_A :

Acide ascorbique : 4,2 et 11,8

Acide oxalique : 1,2 et 4,3

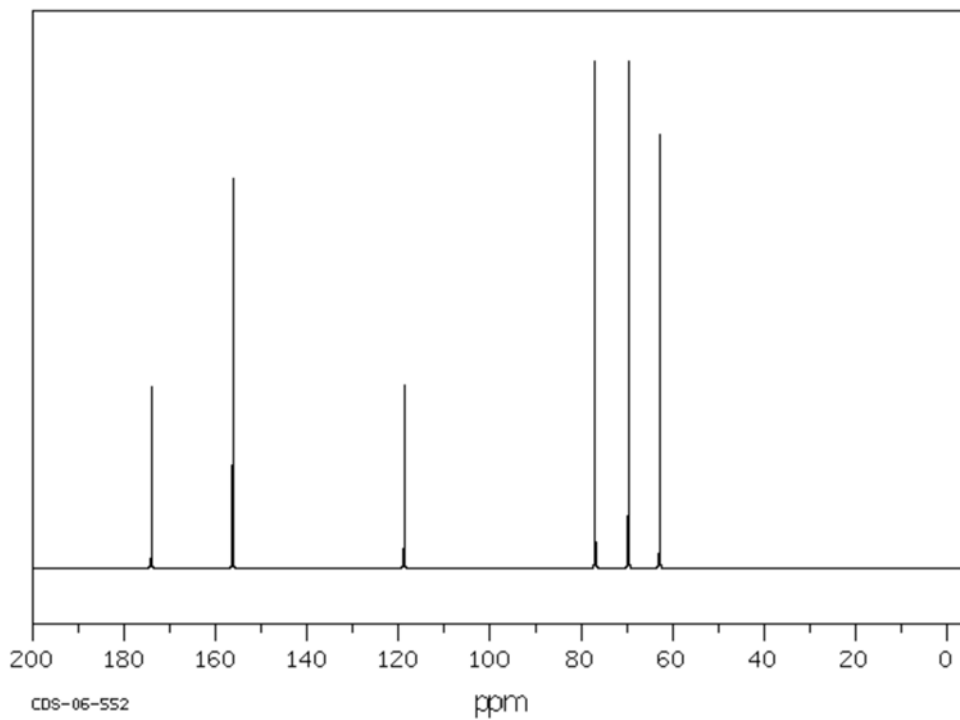
pH de divers milieux biologiques

Salive : 7

Suc gastrique : 2

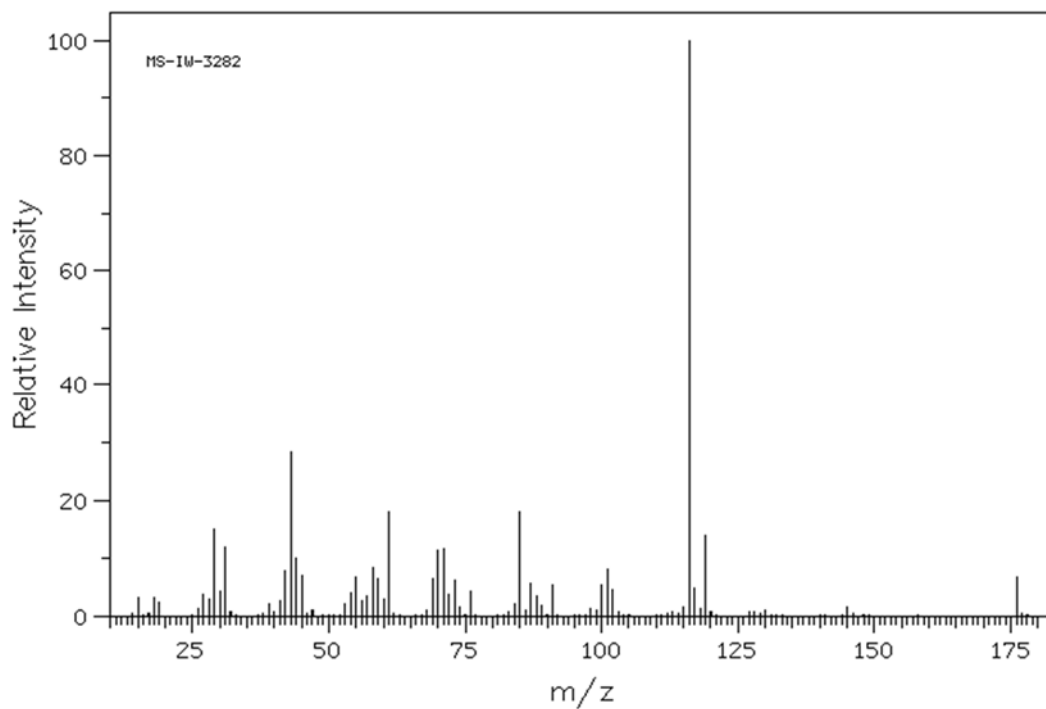
ANNEXE 4 : Spectres de la vitamine C

Spectre A :



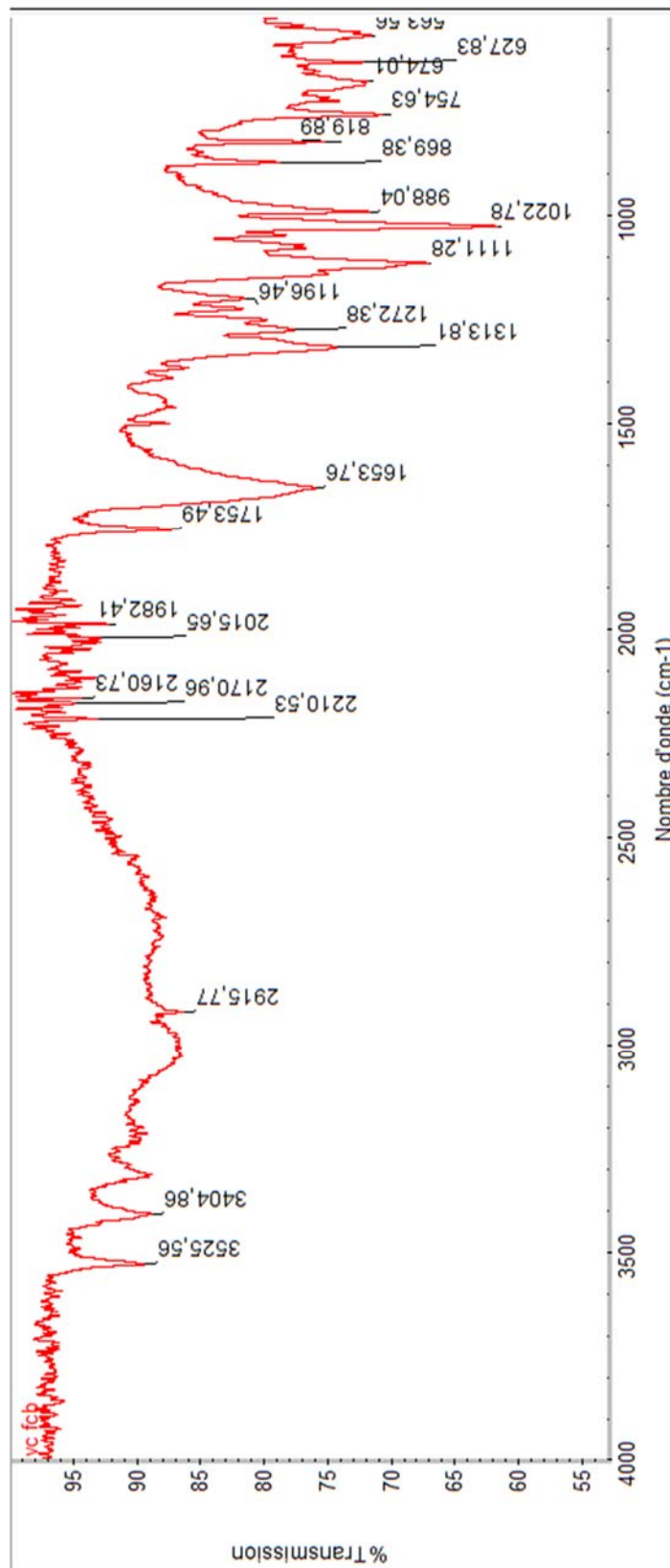
Source : Spectral Data for Organic Compounds SDBS ; <https://sdb.sdb.aist.go.jp>

Spectre B :



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

Spectre C :



RAPPORT DU JURY DE TP DE CHIMIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,16 / 20**
- Meilleure note : **15,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,50 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **37 %**
- Moyenne des candidats admis : **10,85 / 20**

L'épreuve de travaux pratiques de chimie de cette année s'intéressait à la vitamine C. Le sujet se composait de deux parties. La première s'attachait à la synthèse d'un complexe métallique et à son analyse exploitant les propriétés réductrices de l'acide ascorbique. La deuxième partie proposait une étude des différentes propriétés de la vitamine C.

La partie expérimentale (partie I : synthèse et analyse d'un complexe) portait sur la réalisation :

- d'un montage de chauffage à reflux, d'une filtration sur Büchner à l'aide d'une trompe à eau, puis d'un séchage à l'étuve jusque masse constante afin de synthétiser un complexe et déterminer un rendement en produit brut sec,
- du titrage des ions fer(II) par spectroscopie d'absorption UV-visible par étalonnage externe après formation d'un complexe avec des ligands bipyridine,
- du titrage des ions oxalate par les ions permanganate par détection visuelle après étalonnage de la solution titrante.

La seconde partie s'intéressait à la structure et aux propriétés chimiques de la vitamine C :

- propriétés acides : diagramme de prédominance et calcul du pH d'une solution d'acide faible,
- propriétés réductrices,
- chiralité : relation de stéréoisomérisation, descripteur stéréochimique,
- analyse spectrale : IR, RMN-¹³C et spectre de masse,
- utilisation pour la synthèse d'un précurseur chiral : fonctions chimiques, stéréosélectivité, mécanisme réactionnel, protection de fonctions.

Le jury rappelle que la note finale prend en compte la partie expérimentale (manipulations et exploitations des résultats expérimentaux) et la partie théorique. Dès lors, une copie même brillante ne pourra compenser une absence de résultats expérimentaux.

Le temps accordé par les candidats à la manipulation et aux questions expérimentales a été conséquent. Le jury a toutefois constaté des difficultés quant à la mise en œuvre d'un montage de chauffage à reflux. Certains candidats ont donc manqué de temps : ils n'ont pas réalisé l'ensemble des manipulations demandées ou ont consacré trop peu de temps aux réponses aux questions.

Le soin apporté aux copies est inégal, notamment pour la réalisation de schémas légendés, et souvent insuffisant pour des enseignants ou de futurs enseignants.

Le nombre de chiffres significatifs employé (trop ou pas assez) pour écrire un résultat de mesure est souvent peu pertinent.

Pour comparer deux valeurs, le calcul d'un biais relatif exprimé en pourcentage peut être intéressant. La simple affirmation d'une cohérence des valeurs n'est pas suffisante.

I. Synthèse du ferrioxalate de potassium trihydraté

Sécurité au laboratoire de chimie :

Le jury rappelle qu'une tenue de sécurité complète en laboratoire de chimie inclut le port des lunettes de sécurité en permanence à partir du moment où un candidat manipule dans le laboratoire. Cela est d'autant plus nécessaire pour manipuler une substance présentant un danger d'irritation oculaire de catégorie 2 ou un mélange présentant un danger de lésions oculaires graves de catégorie 1.

Les manipulations doivent être réalisées debout. Afin de permettre des déplacements fluides et sécurisés pendant l'épreuve, les tabourets doivent être placés sous les paillasses dès qu'un candidat se lève.

L'utilisation de gants au laboratoire de chimie doit se faire de manière raisonnée. En particulier, ils doivent être ôtés en l'absence de manipulation (utilisation d'un crayon, d'une calculatrice...).

Le déplacement de poudres au sein du laboratoire (retour au laboratoire depuis la salle de pesée par exemple) doit s'effectuer dans un récipient fermé (coupelle de pesée placée dans une boîte de Pétri avec couvercle par exemple).

Expérience 1 : Synthèse du complexe

Réalisation de la synthèse :

- La réalisation du montage à reflux a posé des difficultés à de nombreux candidats (sécurisation du montage par utilisation de pinces deux doigts et trois doigts, utilisation d'un support-élévateur, identification et utilisation de l'ampoule de coulée).
- L'ampoule de coulée et le réfrigérant ne doivent être ôtés qu'après refroidissement.
- Le refroidissement du mélange réactionnel contenu dans le ballon est plus efficace avec un bain d'eau glacée qu'avec de la glace seule.
- Une fiole à vide doit être fixée à une potence et la trompe à eau réglée avec un débit d'eau important pour obtenir une dépression suffisante.
- Un suivi de séchage de produit à l'étuve se fait jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Pour faciliter le suivi et limiter les pertes de produits par transvasement, la boîte de Pétri doit être tarée au préalable.

Réponses aux questions posées :

Le jury indique que :

- les noms de la verrerie et du matériel de synthèse ne sont pas maîtrisés (fiole à vide/erlenmeyer, entonnoir sans préciser Büchner),
- très peu de candidats savent déterminer le rendement de la synthèse : un raisonnement en quantité de matière et l'identification du réactif limitant sont nécessaires,
- l'enthalpie standard de réaction et l'entropie standard de réaction n'ont pas été correctement nommées.

Expérience 2 : dosage des ions fer(II) par spectroscopie d'absorption UV-visible par étalonnage externe après formation d'un complexe avec des ligands bipyridine

Réalisation du dosage :

- L'utilisation d'un entonnoir est à privilégier pour le transvasement d'un solide.
- L'utilisation des fioles jaugées, pipettes jaugées et du spectrophotomètre UV-visible est globalement bien maîtrisée.

Réponses aux questions posées :

Le jury indique que :

- l'écriture de l'équation de la réaction d'oxydoréduction a posé des difficultés à presque tous les candidats,
- les questions théoriques sur la spectroscopie UV-visible ont été globalement bien traitées,
- les calculs nécessitant de travailler avec des quantités de matière et non des concentrations ont été de manière générale moins bien menés que ceux pouvant être menés avec concentration et/ou masse.

Expérience 3 : titrage des ions oxalate par les ions permanganate par détection visuelle après étalonnage de la solution titrante.

Réalisation des titrages :

- L'utilisation d'une burette graduée et la lecture des volumes versés à l'équivalence sont globalement acquises.
- La détermination de l'équivalence par détection visuelle à la goutte près n'est pas toujours correctement réalisée.

Réponses aux questions posées :

Le jury indique que :

- la nécessité de l'étalonnage de la solution titrante n'a pas été comprise,
- l'écriture de l'équation de la réaction support de titrage et le calcul de la constante d'équilibre ont été généralement bien traités,
- la relation entre quantité de matière de réactifs introduits à l'équivalence inclut la prise en compte des nombres stœchiométriques de l'équation de réaction support de titrage.

II. Chimie de la vitamine C

Le jury indique que peu de candidats ont traité cette partie.

Réponses aux questions posées :

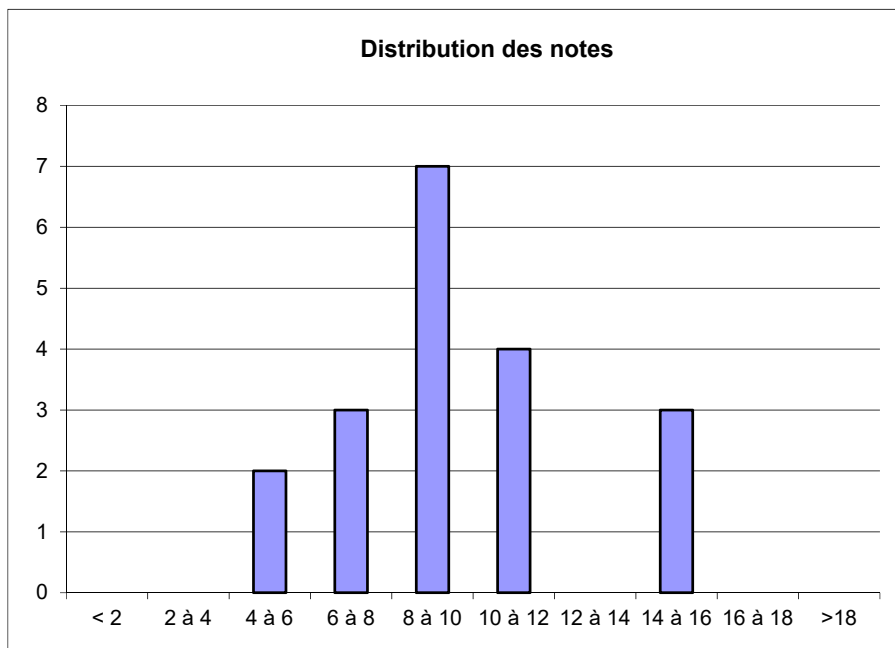
Le jury indique que :

- très peu de candidats ont réussi le calcul correct du pH de la solution d'acide ascorbique,
- les questions sur les propriétés réductrices, la chiralité, l'analyse spectrale ainsi que la partie chimie organique, ont été assez correctement traitées lorsqu'elles l'ont été.

Distribution des notes

Moyenne : 09,16/20

Ecart type : 2,9



Répartition des taux de réponses et des pourcentages de bonnes réponses

	I. 1. Synthèse du ferrioxalate de potassium trihydraté						
N° question	1	2	3	4	5	6	7
% réponses	89	95	89	79	84	89	79
% bonnes réponses	87	71	86	53	89	61	29

	I.2.a. Dosage des ions fer(II)											
N° question	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
% réponses	89	100	95	95	47	63	89	84	68	89	63	58
% bonnes réponses	58	70	67	82	21	53	97	55	80	97	53	73

	I.2.b. Titrage des ions oxalate							
N° question	20	21	22	23	24	25	26	27
% réponses	58	84	74	47	53	47	16	11
% bonnes réponses	32	69	64	61	90	52	33	30

	II.1. Structure et propriétés chimiques de la vitamine C											
N° question	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
% réponses	47	47	53	63	47	42	58	37	53	37	16	11
% bonnes réponses	44	30	65	69	72	66	42	64	63	84	66	50

	II.2. La vitamine C pour l'obtention de molécules thérapeutiques									
N° question	40	41	42	43	44	45	46	47	48	
% réponses	32	16	26	11	16	5	16	11	11	
% bonnes réponses	54	100	80	25	50	0	75	100	0	

ÉPREUVE ORALE DE LEÇON

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

SUJETS

BIOCHIMIE	BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE	MICROBIOLOGIE
Le glycogène : structure, biosynthèse et mobilisation par l'organisme humain.	Un exemple de glande endocrine : le pancréas.	Défis des pathogènes intracellulaires.
Les acides aminés non protéinogènes.	L'autophagie.	Les transferts de gènes chez les microorganismes.
Défauts de repliement protéique et pathologies associées.	Les cellules gliales.	Infections vectorisées.
Cétogenèse et cétolyse.	La membrane plasmique de la cellule eucaryote.	Les virus à ARN.
Rôle des chylomicrons dans le métabolisme lipidique.	Les cellules musculaires striées squelettiques.	Les parois bactériennes et archéales.
Les modifications post-traductionnelles réversibles.	Le spermatozoïde : une cellule spécialisée.	
	La phase G0 : un carrefour de destinées.	

RAPPORT DU JURY DE LEÇONS

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **12,28 / 20**
- Meilleure note : **18,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,50 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **78 %**
- Moyenne des candidats admis : **14,55 / 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. La leçon doit 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.

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

Remarques sur la présentation

Le candidat dispose de 45 minutes sans interruption pour présenter sa leçon, temps suivi de 15 minutes d'entretien. En 2023 une légère évolution se produira (40 minutes de présentation et 20 minutes d'entretien).

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 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 et de la maîtrise du sujet. 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 15 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 biologistes.

Rapport sur les leçons de Biochimie

Pour cette édition 2022, six leçons de biochimie ont été proposées. Les leçons ont souvent été traitées avec sérieux et dispensées par des candidats adoptant la posture digne d'un professeur titulaire d'une agrégation. 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. Il a été apprécié par les membres du jury que les candidats aient prévu sur le temps imparti à la leçon une part non négligeable de méthodologie. Une ouverture, sur le plan pathologique en général, a été proposée par une majeure partie des candidats de manière à ouvrir le sujet et à ne pas rester sur des éléments communs attendus. Malheureusement, certains candidats sont passés à côté de leur épreuve, le sujet proposé n'ayant pas été pleinement compris et des parties hors sujets, de ce fait, ont été développées. 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

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, avec l'environnement ou avec leurs hôtes infectés.

Les sujets proposés cette année étaient classiques, pour la plupart, 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, les démonstrations expérimentales et les microorganismes mentionnés.

La difficulté du sujet portant sur la paroi des bactéries et des Archées était liée aux données plus limitées concernant la paroi des Archées. La difficulté majeure liée au sujet sur les défis des pathogènes intracellulaires était de bien choisir les exemples illustrant les stratégies très variées mises en œuvre par les pathogènes intracellulaires de tous types pour se développer au sein d'une cellule. Les autres sujets étaient plus classiques.

Certains candidats ont excellé dans l'exercice proposé, avec un exposé dynamique, vivant, intégré, richement illustré mais d'autres ont rencontré plus de difficultés à élever le niveau de leur exposé qui est resté superficiel ou ils n'ont pu réaliser qu'une description incomplète du thème proposé.

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 « La membrane plasmique de la cellule eucaryote») 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 « l'autophagie » 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.

Certains sujets proposés cette année étaient relativement classiques, tel que « un exemple de glande endocrine : le pancréas ». Il fallait donc bien introduire les termes de la leçon et les définir dès le début de la leçon.

Dans certains cas, le jury a regretté l'absence de traitement de parties importantes de certaines leçons comme par exemple lors de la leçon « Le spermatozoïde une cellule spécialisée ». Le jury attendait que la maturation du spermatozoïde au cours de son transit épидидymaire soit développée.

Pour l'illustration des structures cellulaires et tissulaires, les candidats ont trop souvent tendance à utiliser des schémas alors que la présentation de photos de préparations microscopiques et d'images de microscopie électronique serait souvent plus pertinente. Toutefois, il ne suffit pas de montrer des figures de MET, il faut aussi savoir les expliquer. Le jury a apprécié que certains candidats élaborent ou utilisent des schémas pour faire un résumé.

Le jury souhaite tout de même 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

Des petits ARN glycosylés découverts à la surface des cellules.	<p>Flynn RA, Pedram K, Malaker SA, Batista PJ, Smith BAH, Johnson AG, George BM, Majzoub K, Villalta PW, Carette JE, Bertozzi CR Small RNAs are modified with N-glycans and displayed on the surface of living cells <i>Cell</i>, 2021, vol. 184, p. 3109-3124 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL FIGURES sur la clé)</p>
	<p>Ontiveros RJ, Stoute J, Liu KF The chemical diversity of RNA modifications <i>Biochemical Journal</i>, 2019, vol. 476, p. 1227-1245</p>
Des vaccins de seconde génération contre le SARS-CoV-2.	<p>Brouwer PJM, Brinkkemper M, Maisonnasse P, Dereuddre-Bosquet N, Grobben M, Claireaux M, de Gast M, Marlin R, Chesnais V, Diry S, Allen JD, Watanabe Y, Giezen JM, Kerster G, Turner HL, van der Straten K, van der Linden CA, Aldon Y, Naninck T, Bontjer I, Burger JA, Poniman M, Mykytyn AZ, Okba NMA, Schermer EE, van Breemen MJ, Ravichandran R, Caniels TG, van Schooten J, Kahlaoui N, Contreras V, Lemaître J, Chapon C, Ho Tsong Fang R, Villaudy J, Sliepen K, van der Velden YU, Haagmans BL, de Bree GJ, Ginoux E, Ward AB, Crispin M, King NP, van der Werf S, van Gils MJ, Grand R, Sanders RW Two-component spike nanoparticle vaccine protects macaques from SARS-CoV-2 infection <i>Cell</i>, 2021, vol. 184, p. 1188-1200 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL FIGURES & INFORMATION sur la clé)</p>
	<p>Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, Zhang W Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines <i>International Journal of Biochemical Sciences</i>, 2021, vol. 17, p. 8-19</p>
De la haute couture moléculaire pour lutter contre la maladie d'Alzheimer.	<p>Brown AJH, Bradley SJ, Marshall FH, Brown GA, Bennett KA, Brown J, Cansfield JE, Cross DM, de Graaf C, Hudson BD, Dwomoh L, Dias JM, Errey JC, Hurrell E, Liptrot J, Mattedi G, Molloy C, Nathan PJ, Okrasa K, Osborne G, Patel JC, Pickworth M, Robertson N, Shahabi S, Bundgaard C, Phillips K, Broad LM, Goonawardena AV, Morairty SR From structure to clinic: Design of a muscarinic M1 receptor agonist with the potential to treat Alzheimer's disease <i>Cell</i>, 2021, vol. 184, p. 5886-5901 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL FIGURES sur la clé)</p>
	<p>Moran SP, Maksymetz J, Conn PJ Targeting Muscarinic Acetylcholine Receptors for the Treatment of Psychiatric and Neurological Disorders <i>Trends in Pharmacological Sciences</i>, 2019, vol. 40, p. 1006-1020</p>
La différenciation de la moelle osseuse.	<p>Elsafadi M, Shinwari T, Al-Malki S, Manikandan M, Mahmood A, Aldahmash A, Alfayez M, Kassem M, Alajez NM Convergence of TGFβ and BMP signaling in regulating human bone marrow stromal cell differentiation <i>Nature Scientific Reports</i>, 2019, vol. 9, art. 4977, p. 1-13</p>
	<p>Abdallah BM, Kassem M Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications <i>Gene therapy</i>, 2008, vol. 15, p. 109-116</p>

Rôle du microbiote dans la protection contre les virus <i>Influenza</i>.	Figueroa T, Bessière P, Coggon A, Bouwman KM, Van der Woude R, Delverdier M, Verheije MH, De Vries RP, Volmer R The Microbiota Contributes to the Control of Highly Pathogenic H5N9 Influenza Virus Replication in Ducks. <i>Journal of Virology</i> , 2020, vol. 94, art. e00289-20, p. 1-17
	Chen CJ, Wu GH, Kuo RL, Shih SR Role of the intestinal microbiota in the immunomodulation of influenza virus infection <i>Microbes and Infection</i> , 2017, vol. 19, p. 570-579
Développement et modification post-traductionnelle.	Lohraseb I, McCarthy P, Secker G, Marchant C, Wu J, Ali N, Kumar S, Daly RJ, Harvey NL, Kawabe H, Kleifeld O, Wiszniak S, Schwarz Q Global ubiquitinome profiling identifies NEDD4 as a regulator of Profilin 1 and actin remodeling in neural crest cells <i>Nature Communications</i> , 2022, vol. 13, art. 2018, p. 1-18 (SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Rotin D, Kumar S Physiological functions of the HECT family of ubiquitin ligases <i>Nature Reviews Molecular Cell Biology</i> , 2009, vol. 10, p. 398-409
Les aptamères, des anti-tuberculeux prometteurs contre <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ?	Baig IA, Moon JY, Lee SC, Ryoo SW, Yoon MY Development of ssDNA aptamers as potent inhibitors of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> acetohydroxyacid synthase <i>Biochimica et Biophysica Acta / Protein and Proteomics</i> , 2015, vol. 1854, p. 1338-1350 (+ SUPPLEMENTARY MATERIAL sur la clé)
	Srivastava S, Abraham PR, Mukhopadhyay S Aptamers: An Emerging Tool for Diagnosis and Therapeutics in Tuberculosis <i>Frontiers in Cellular and Infection Microbiology</i> , 2021, vol. 11, art. 656421, p. 1-13
Vous avez dit « évolution moléculaire in vitro » d'un anticorps ?	Skamaki K, Emond S, Chodorge M, Andrews J, Rees DG, Cannon D, Popovic B, Buchanan A, Minter RR, Hollfelder F In vitro evolution of antibody affinity via insertional scanning mutagenesis of an entire antibody variable region <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (PNAS)</i> , 2020, vol. 117, p. 27307-27318 (+ SUPPORTING INFORMATION sur la clé)
	Tiller KE, Tessier PM Advances in Antibody Design <i>Annual Review of Biomedical Engineering</i> , 2015, vol. 17, p. 171-216
Une nouvelle idée de cible contre l'infection à <i>Anaplasma phagocytophilum</i> ?	Green RS, Nalmi WA, Oliver LD Jr, O'Blier N, Cho N, Conrad DH, Martin RK, Marconi RT, Carlyon JA Binding of Host Cell Surface Protein Disulfide Isomerase by <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Asp14 Enables Pathogen Infection <i>American Society for Microbiology / mBio</i> , 2020, vol. 11, art. e03141-19, p. 1-16 (+ SUPPLEMENTAL MATERIAL sur la clé)
	Stuen S, Granquist EG, Silaghi C <i>Anaplasma phagocytophilum</i> – a widespread multi-host pathogen with highly adaptative strategies <i>Frontiers in Cellular and Infection Microbiology</i> , 2013, vol. 3, article 31, p. 1-33
Maintien de la santé lysosomale.	Gupta S, Yano J, Mercier V, Htwe Htwe H, Shin HR, Rademaker G, Cakir Z, Ituarte T, Wen KW, Kim GE, Zoncu R, Roux A, Dawson DW, Perera RM Lysosomal retargeting of Myoferlin mitigates membrane stress to enable pancreatic cancer growth <i>Nature Cell Biology</i> , 2021, vol. 23, p. 232-242 + METHODS (+ EXTENDED DATA sur la clé)
	Lawrence RE, Zoncu R The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control <i>Nature Cell Biology</i> , 2019, vol. 21, p. 133-142 (non numérotées ici)
L'inhibition de la compétence : un moyen de limiter la résistance du pneumocoque aux antibiotiques ?	Domenech A, Brochado AR, Sender V, Hentrich K, Henriques-Normark B, Typas A, Veening JW Proton Motive Force Disruptors Block Bacterial Competence and Horizontal Gene Transfer <i>Cell Host & Microbe</i> , 2020, vol. 27, p. 544-555 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL INFORMATION sur la clé)
	Straume D, Stamsås GA, Håvarstein LS Natural transformation and genome evolution in <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Infection, Genetics and Evolution</i> , 2015, vol. 33, p. 371-380 (p. 1-10 ici)

La maladie de Huntington.	Capizzi M, Carpentier R, Denarier E, Adrait A, Kassem R, Mapelli M, Couté Y, Humbert S Developmental defects in Huntington's disease show that axonal growth and microtubule reorganization require NUMA1 <i>Neuron</i> , 2022, vol. 110, p. 36-50 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL INFORMATION sur la clé)
	Stephens MC, Brandt V, Botas J The developmental roots of neurodegeneration <i>Neuron</i> , 2022, vol. 110, p. 1-3
La réplication virale sous contrôle ?	Zhu L, Gao T, Huang Y, Jin J, Wang D, Zhang L, Jin Y, Li p, Hu Y, Wu Y, Liu H, Dong Q, Wang G, Zheng T, Song C, Bai Y, Zhang X, Liu Y, Yang W, Xu K, Zou G, Zhao L, Cao R, Zhong W, Xia X, Xiao G, Liu X, Cao C Ebola virus VP35 hijacks the PKA-CREB1 pathway for replication and pathogenesis by AKIP1 association <i>Nature Communications</i> , 2022, vol.13, art. 2256, p.1-13 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Feldmann H, Jones S, Klenk HD, Schnittler HJ Ebola virus: from discovery to vaccine <i>Nature Reviews Immunology</i> , 2003, vol. 3, p. 677-685
Comment lutter contre le variant Omicron du SARS-CoV-2 ?	Planas D, Saunders N, Maes P, Guivel-Benhassine F, Planchais C, Buchrieser J, Bolland WH, Porrot F, Staropoli I, Lemoine F, Péré H, Veyer D, Puech J, Rodary J, Baele G, Dellicour S, Raymenants J, Gorissen S, Geenen C, Vanmechelen B, Wawina-Bokalanga T, Martí-Carreras J, Cuypers L, Sève A, Hocqueloux L, Prazuck T, Rey FA, Simon-Loriere E, Bruel T, Mouquet H, André E, Schwartz O Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization <i>Nature</i> , 2021, vol. 602, p. 671-675 + METHODS (+ EXTENDED DATA sur la clé)
	Corti D, Purcell LA, Snell G, Veesler G Tackling COVID-19 with neutralizing monoclonal antibodies <i>Cell</i> , 2021, vol. 184, p. 3086-3108
Rôle du SST6 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans les antagonismes bactériens.	Wood TE, Howard SA, Förster A, Nolan LM, Manoli E, Bullen NP, Yau HCL, Hachani A, Hayward RD, Whitney JC, Vollmer W, Freemont PS, Filloux A The <i>Pseudomonas aeruginosa</i> T6SS Delivers a Periplasmic Toxin that Disrupts Bacterial Cell Morphology <i>Cell Reports</i> , 2019, vol. 29, p. 187-201 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL INFORMATION + S4-LIST OF PRIMERS + S1-UNCROPPED IMMUNOBLOTS sur la clé)
	Chen L, Zou Y, She P, Wu Y Composition, function, and regulation of T6SS in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Microbiological Research</i> , 2015, vol. 172, p. 19-25
Les aptamères : de nouveaux outils en cancérologie.	Wu Q, Lin N, Tian T, Zhu Z, Wu L, Wang H, Wang D, Kang D, Tian R, Yang C Evolution of Nucleic Acid Aptamers Capable of Specifically Targeting Glioma Stem Cells via Cell-SELEX <i>Analytical Chemistry</i> , 2019, vol. 91, p. 8070-8077 (+SUPPORTING INFORMATION sur la clé)
	Hori S, Herrera A, Rossi JJ, Zhou J Current Advances in Aptamers for Cancer Diagnosis and Therapy <i>Cancers</i> , 2018, vol. 10, p. 1-33
Cytosquelette d'actine et durée de vie.	Sing CN, Garcia EJ, Lipkin TG, Huckaba TM, Tsang CA, Coughlin AC, Yang EJ, Boldogh IR, Higuchi-Sanabria R, Pon LA Identification of a modulator of the actin cytoskeleton, mitochondria, nutrient metabolism and lifespan in yeast <i>Nature Communication</i> , 2022, vol. 13, art. 2706, p. 1-12 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Lai WF, Wong W-T Roles of the actin cytoskeleton in aging and age-associated diseases <i>Ageing Research Reviews</i> , 2020, vol. 58, art.102021, p. 1-12
Traitement du CoViD grâce à l'injection intranasale précoce d'interféron de type I chez le hamster.	Bessière P, Wasniewski M, Picard-Meyer E, Servat A, Figueroa T, Foret-Lucas C, Coggon A, Lesellier S, Boué F, Cebron N, Gausserès B, Trumel C, Foucras G, Salguero FJ, Monchatre-Leroy E, Volmer R Intranasal type I interferon treatment is beneficial only when administered before clinical signs onset in the SARS-CoV-2 hamster model <i>PLoS Pathogens</i> , 2021, vol. 17, art. e1009427, p. 1-17 (+ SUPPORTING INFORMATION sur la clé)
	Kim YM, Shin EC Type I and III interferon responses in SARS-CoV-2 infection <i>Experimental & Molecular Medicine</i> , 2021, vol. 53, p. 750-760

RAPPORT DU JURY D'ECD

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,67 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **04,00 / 20**
- Notes supérieures ou égales à 10 : **61 %**
- Moyenne des candidats admis : **14,10 / 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 la logique expérimentale et les éléments de réponses apportés par la publication scientifique. L'exposé doit présenter la ou les question(s) scientifique(s) posée(s) ainsi que la démarche scientifique et les développements technologiques adoptés 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 celui 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 restituer 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 technique originale ou d'approche expérimentale complexe, une description du principe de l'expérience peut s'avérer utile. 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.

Remarques sur l'entretien

Enfin, les questions représentent la moitié du temps de l'épreuve. Cet aspect de l'épreuve 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. 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 toutes des qualités très appréciées par le jury.

Conseils

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 sont en libre accès et ils permettront aux candidats de s'améliorer pour cette épreuve mais aussi de réactualiser leurs connaissances scientifiques et techniques.

Rapport sur les questions relatives à la Chimie

L'épreuve de l'ECD fait l'objet de questions de chimie. Ces dernières peuvent porter sur les notions abordées par le (la) candidat(e) lors de sa présentation ou pendant l'entretien avec le jury. Le (la) candidat(e) devra pouvoir expliquer les principes relatifs aux techniques analytiques évoquée lors de l'épreuve (méthodes spectroscopiques ou chromatographiques par exemple), ainsi préciser l'utilité de certains réactifs.

Le (la) candidat(e) devra connaître les unités couramment utilisées dans le domaine de la biochimie ainsi que les unités du système international.

Le (la) candidat(e) devra pouvoir faire le lien entre la réactivité d'un atome et sa structure électronique. La règle de distribution des électrons dans les sous-couches électroniques n'est pas suffisamment maîtrisée, de même que l'électronégativité des atomes.

Les notions liées à la fluorescence sont connues mais parfois expliquées avec peu de précision dans le vocabulaire. Il faudrait que le (la) candidat(e) puisse donner la relation entre l'énergie E et λ , définir le spectre d'excitation et d'émission, préciser les particularités des groupements chimiques des fluorophores...

Les molécules de bases ne sont pas toujours connues des candidat(e)s (bases puriques, pyrimidiques, sucres simples ou diholosides, acides gras, triglycérides, cholestérol...). Les représentations sont parfois approximatives. Le (la) candidat(e) devrait aussi connaître les règles de numérotation des atomes de ces molécules.

Les différents types d'isomérisation ne sont pas connus. La chiralité est l'isomérisation la plus fréquemment citée mais elle n'est pas la seule. Certain(e)s candidat(e)s ont su expliquer certaines règles de détermination des configurations L et D ou R et S. Les configurations L et D ne doivent pas être confondues avec le pouvoir rotatoire lévogyre et dextrogyre.

La notion de pK_a , en particulier pour les acides aminés (courbe de titration), et celle de solution tampon n'est pas complètement assimilée. Certain(e)s candidat(e)s ont néanmoins su tracer des courbes de titration avec les axes correctement légendés (certains les inversent) et avec précision des points particuliers.

Les réactions d'oxydo-réduction doivent être maîtrisées, en particulier la détermination du degré d'oxydation, la règle du gamma, la loi de Nernst.

Les expressions des constantes (constante d'acidité, produit de solubilité...) manquent de rigueur dans leur écriture. Les activités de certains composés sont assimilées à des concentrations alors qu'il s'agit d'une molécule sous forme solide.

Le lien entre les constantes d'équilibre et ΔG° ainsi que la signification de ΔG° et de ΔG ne sont pas maîtrisés.

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, 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 ». Il a en effet été possible cette session, d'évaluer les compétences qui se déploient en lycée général et technologique, ou à l'IUT, dans les laboratoires de biochimie, de microbiologie où elles ont été évaluées, explicitées et analysées lors des TP cette session, de biologie humaine, de biologie moléculaire, de biologie cellulaire. Ces compétences sont indispensables pour assurer la formation en STL biotechnologies, en BPH en ST2S, en 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 voire le métier de 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 fournis très souvent 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, en français et en anglais, afin de se familiariser avec cette 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 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, ainsi que le personnel d'accueil et d'entretien, pour l'accueil et le travail efficace concernant l'organisation tout au long du déroulement de ce concours. Grâce à l'engagement de chacun des acteurs impliqués dans sa préparation et son organisation, la session 2022 de l'agrégation de biochimie-génie biologique a pu avoir lieu dans des conditions très satisfaisantes.

Je tiens à remercier 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 TP 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.

Enfin, je remercie Frédéric Ducancel, vice-président, directeur de recherche au CEA, et engagé dans ce concours, où il aura joué presque tous les rôles en contribuant à maintenir ce concours de très haut niveau, avec une forte exigence scientifique et technique, en faisant preuve de qualités humaines essentielles dans nos métiers de relation, qu'il s'agisse de l'enseignement ou de la recherche.