

CONCOURS GÉNÉRAL DES LYCÉES

**Section : Biochimie,
Biologie, et Biotechnologies**

Session 2023

Rapport de jury présenté par :

Madame Caroline BONNEFOY

Présidente de jury

Inspectrice Générale de l'éducation du sport et de la recherche
Groupe des Sciences et Technologies du Vivant, de la Santé et de la Terre

Table des matières

1. Présentation générale

2. L'épreuve écrite d'admissibilité :

- 2.1. Présentation de l'épreuve écrite
- 2.2. Les conseils du jury pour préparer l'épreuve écrite

3. Les épreuves d'admission :

- 3.1. L'épreuve orale
 - 3.1.1. Organisation opérationnelle
 - 3.1.2. Présentation de l'épreuve orale
 - 3.1.3. Les conseils du jury pour réussir l'épreuve orale
- 3.2. L'épreuve pratique
 - 3.2.1. Organisation matérielle
 - 3.2.2. Présentation de l'épreuve pratique
 - 3.2.3. Les conseils du jury pour réussir l'épreuve pratique

4. Quelques repères pour le concours

- 4.1. L'épreuve d'admissibilité
- 4.2. Les épreuves d'admission
- 4.3. Les résultats

Composition du jury

Présidente

Caroline BONNEFOY, Inspectrice générale de l'éducation, du sport et de la recherche, groupe sciences et technologies de la santé du vivant et de la terre.

Vice-présidente et vice-président

Sylvain ANDRE, Inspecteur d'académie, Inspecteur pédagogique régional de biotechnologies génie biologique, rectorat d'Orléans-Tours–extension Clermont-Ferrand, Guadeloupe.

Géraldine CARAYOL, Inspectrice d'académie, Inspectrice pédagogique régional de biotechnologies génie biologique, rectorat de Versailles – extension Limoges, Mayotte

Membres du jury

Emmanuelle ANDRÉ, professeure agrégée de biochimie génie biologique

Véronique BOUGEANT, professeure agrégée de biochimie génie biologique

Pierre BOUQUEREL, professeur agrégé de biochimie génie biologique

Thibault CARRÉ, professeur agrégé de biochimie génie biologique

Cécile DUPRAT, professeure certifiée de biotechnologies - biochimie génie biologique

Anne FLAMANS, professeure certifiée de biotechnologies - biochimie génie biologique

Laureen LOGGER, professeure certifiée de biotechnologies - biochimie génie biologique

Pauline MAIRE, professeure certifiée de biotechnologies - biochimie génie biologique

Clément NÉMOZ, professeur agrégé de biochimie génie biologique

Émilie PIBAROT, professeure certifiée de biotechnologies - biochimie génie biologique

Rémi RALLET, professeur certifié de biotechnologies - biochimie génie biologique

Rapport de jury

1. Présentation générale du concours

La note de service NOR : MENE2229913N du 2-11-2022 MENJ - DGESCO A-MPE définit l'organisation des concours généraux pour l'année scolaire 2022-2023.

Ce concours général, comme pour l'ensemble des disciplines concernées, permet de stimuler intellectuellement, puis de valoriser les élèves qui sont en mesure de se confronter à des épreuves qui vont largement au-delà des attendus du baccalauréat STL biotechnologies.

La réflexion attendue dans ces épreuves permet à chaque candidate ou candidat, à partir des ressources fournies par les sujets des différentes épreuves, de mettre en avant sa culture en biotechnologies, en biochimie et en biologie, ainsi que ses compétences, en particulier ses capacités d'analyse de documents de natures variées scientifiques, technologiques et sociétaux, dont il ou elle peut rendre compte à l'écrit, puis à l'oral s'il ou si elle est admissible. Ces sujets tiennent compte de l'actualité et de découvertes récentes en biotechnologie et en biologie.

L'autre particularité de ce concours réside dans la mise en œuvre dans le laboratoire très spécifique de biotechnologies, d'une épreuve pratique expérimentale pluridisciplinaire originale et ambitieuse, pour évaluer les compétences expérimentales qui sont au cœur de la formation des élèves de cette série de baccalauréat « scientifique et technologique de laboratoire ». Les candidats sont amenés à utiliser du matériel inconnu à l'aide d'un mode opératoire.

Enfin, la partie orale de l'épreuve d'admission, ancrée dans un partenariat avec un organisme professionnel relevant du champ des biotechnologies, une visite d'un laboratoire de recherche et une conférence, ont permis aux élèves de témoigner de leur capacité à transposer leurs acquis disciplinaires dans un contexte innovant et inédit pour eux, en mobilisant les compétences de l'oral.

Le concours général de Biotechnologies est organisé comme suit :

- Une épreuve écrite pour l'obtention de l'admissibilité d'une durée de 5 h ;
- Deux épreuves pour l'admission et le palmarès définitif :
 - o Une épreuve orale préparée par les candidats pendant une heure et présentée devant les membres de jurys pendant 30 minutes avec un entretien ;
 - o Une épreuve de travaux pratiques de 4 h portant sur l'ensemble des disciplines de biologie biochimie et biotechnologies.

Il est de tradition dans ce concours que les thématiques des trois épreuves présentent une cohérence dans les thématiques abordées.

Cette année le jury a fait le choix de proposer un sujet portant sur l'étude moderne de la biodiversité et des applications pouvant en dériver.

Epreuve, durée et remarques sur les modalités	
Hors aménagement d'épreuve pour les candidats concernés	
Écrit	5 heures
Épreuve orale	1 heure de préparation 30 minutes d'oral (15 minutes de présentation par le candidat au maximum puis 15 minutes d'échanges avec le jury)
Épreuve pratique	4 heures

Le palmarès final établi par le jury tient compte de l'ensemble de ces trois épreuves.

2. Épreuve écrite d'admissibilité : « Tara Océan : de l'étude de la biodiversité aux applications thérapeutiques ».

Le jury a produit un sujet en deux parties : une partie « questionnement » et une partie « documentaire » pour faciliter la lecture par les candidats.

2.1 Présentation de l'épreuve écrite

Le sujet de cette année était axé sur l'étude de la biodiversité marine et les applications technologiques issues de la compréhension de cette biodiversité. Le sujet était structuré en quatre parties.

La première partie portait sur l'étude de la biodiversité marine. Elle permettait aux candidats de s'approprier les problématiques liées aux approches classiques d'identification des organismes marins et de percevoir la puissance des approches modernes de métagénomiques pour compléter les approches classiques.

La seconde partie présentait l'étude de l'enzyme « Rubisco activase/Cbbx » présente chez les diatomées. Les candidats étaient invités à étudier les mécanismes d'activation de la protéine Cbbx ainsi que son importance pour la création de puits de carbone.

La troisième partie portait sur l'étude d'une molécule à activité anti-tumorale : l'halichondrine B, issue de l'éponge de mer *Halichondria okadai*. Les candidats étaient amenés au travers de différents documents à étudier le mécanisme d'action de l'éribuline, un dérivé de l'halichondrine B, et à proposer un mécanisme moléculaire expliquant l'activité anti-tumorale.

La quatrième partie permettait aux candidats de faire la synthèse des documents du sujet et de leurs connaissances personnelles en répondant à une question de synthèse sur le concept de « One health ».

2.2. Les conseils du jury pour préparer l'épreuve écrite

Le jury a apprécié la qualité de certaines copies bien que certaines notions scientifiques fondamentales aient parfois fait défaut aux candidats pour comprendre et analyser tout ou partie des documents présentés dans le sujet.

De nombreux candidats et candidates se sont limités à décrire certains documents sans réellement les exploiter, c'est à dire les analyser et les interpréter pour répondre à la consigne.

Les candidates et les candidats doivent porter une attention particulière à la communication écrite. La qualité de l'écriture, l'orthographe, la syntaxe ainsi que les schémas doivent être soignés. Cela peut nécessiter un peu d'entraînement en prévision de cette épreuve qui dure 5 heures.

Il est vivement conseillé au candidat de relire leur copie.

De plus, la gestion du temps est un facteur déterminant dans la réussite de ce concours : certains candidats ont traité de façon exhaustive une partie du sujet, laissant parfois sans réponse des parties entières bien qu'elles comportent certaines questions assez accessibles. Le sujet est volontairement dense et les documents à exploiter nombreux. Il est recommandé de s'imposer un rythme et de s'entraîner à la pratique d'épreuves longues. La réalisation des sujets des années antérieures, dans un temps limité, est un bon exercice pour acquérir cette compétence et travailler la culture des disciplines mobilisées en biotechnologies.

D'autres candidats ont essayé de traiter l'ensemble du sujet. Afin de gérer au mieux le temps imparti, certains ont su appliquer une stratégie de sélection des questions ou sous-parties les mieux comprises pour maximiser le nombre de réponses exactes. Ils ont su faire preuve de

persévérance, d'adaptabilité et de détermination face à des documents amenant chaque fois des notions nouvelles dans des contextes différents

En conclusion, les copies les mieux réussies font état d'une part d'une culture scientifique et technologique déjà solide et pertinente, et d'autre part d'une bonne capacité de compréhension des informations issues des documents, démontrant ainsi les compétences d'analyse des candidats, capables également de mettre en lien des nouveaux concepts avec leurs connaissances.

Les meilleurs candidats ou candidates parviennent à la fois à mobiliser les compétences attendues et à produire des écrits et des illustrations pertinentes. Le jury relève la qualité de l'expression écrite et de l'argumentation, et a parfois été impressionné par le recul de certains candidats ou candidates sur l'argumentation en lien avec la thématique du sujet.

Les démarches logiques, comme la capacité à intégrer les objectifs liés à la problématique du sujet et à les mettre en perspective, ont été valorisées par le jury.

3. Les épreuves d'admission

Les épreuves d'admission se sont déroulées les Jeudi 25 mai et Vendredi 26 mai au lycée du Parc des Loges, à Évry ; lycée co-organisateur, dont sont issus une partie des professeurs concepteurs, évaluateurs et ressources pour l'épreuve pratique.

Les candidats ont été accueillis le Jeudi 25 Mai à 10:00 au Génoscope par Monsieur Sylvain ANDRÉ et Madame Géraldine CARAYOL, vice- présidents du jury ainsi que Monsieur Alain PERRET, Chargé de Recherche au sein de l'équipe « Génomique et biochimie du métabolisme ».

Le Vendredi 26 Mai, Madame Caroline BONNEFOY, présidente du jury était présente aux épreuves pratiques.

Après une présentation du déroulé des épreuves et des enseignants évaluateurs, les candidats ont été invités à visiter les laboratoires du Génoscope avant d'assister à deux conférences, respectivement présentées par Quentin CARRADEC (Les missions de Tara Océan) et Alain PERRET.

- La première conférence, en appui sur les résultats d'expéditions TARA Océan, portait sur la diversité génétique des coraux et l'évaluation de leur réaction au réchauffement climatique ;
- la seconde conférence intitulée « Détection expérimentale de la présence de DMSP dans un échantillon » présentait une étude croisant bio-informatique, culture de microalgues et analyses biochimiques pour comprendre un mécanisme naturel pouvant participer au rôle de certaines microalgues dans l'atténuation du réchauffement des océans.

Pour l'épreuve orale, les candidats ont été répartis en 4 groupes. Une visite du lycée et des laboratoires de biotechnologies en vue de l'épreuve pratique du lendemain a été organisée pour chaque groupe à des moments différents de l'après-midi.

3.1. L'épreuve orale : Étude de la biodiversité microbienne.

Cette épreuve a eu lieu le Jeudi 25 Mai. Les candidats disposaient de 1h30 répartie en 1h de préparation et 30 min de présentation et d'échange avec le jury.

3.1.1. Organisation matérielle

Quatre commissions d'oral ont été constituées. Chaque commission était composée de 2 enseignants membres du jury, associés à une doctorante ou un doctorant d'une équipe du Génoscope en tant que personnalité qualifiée.

Les candidates et candidats disposaient d'une heure de préparation avant un échange de 30 minutes avec les membres de jury.

Dans la salle de préparation, les élèves étaient équipés d'un ordinateur avec les outils de bureautique classique mais sans connexion à internet ainsi que d'une clé USB.

Le sujet leur a été fourni au format papier et format numérique sur ordinateur.

Lors de l'échange avec le jury, les candidats disposaient d'un tableau blanc avec des marqueurs et d'un ordinateur relié à un vidéoprojecteur pouvant être utilisés à leur guise.

3.1.2. Présentation de l'épreuve orale

Deux questions de réflexion ont été proposées aux candidats. Pour construire leur argumentaire, ils disposaient d'une série de documents fournie avec le sujet ainsi que de leur prise de note effectuée lors des conférences du matin.

Dans un premier temps, le candidat ou la candidate devait présenter une synthèse des contenus des conférences scientifiques tenues au Génoscope le matin.

Dans un second temps, le candidat ou la candidate était invité à réfléchir sur les enjeux de la culture des micro-organismes incultivables du microbiote à partir d'un corpus documentaire.

Lors des questionnements, la commission a cherché à éclaircir des aspects insuffisamment expliqués ou dont la maîtrise n'apparaissait pas clairement lors de la prise de parole du candidat ou de la candidate. À l'issue de l'échange, la commission s'est intéressée au projet d'orientation du candidat ou de la candidate.

3.1.3. Les conseils du jury pour réussir l'épreuve orale

Pour réussir cette épreuve, il faut être capable d'exploiter rapidement et de façon minutieuse l'ensemble des documents proposés dans le dossier documentaire, voire de les interconnecter pour présenter une réflexion complète.

Les meilleurs candidats et candidates ont fait preuve d'aisance à l'oral et d'une aptitude au dialogue avec le jury. Leur présentation a été structurée et argumentée en s'appuyant sur l'ensemble des documents fournis, et leur réflexion s'est poursuivie durant l'échange avec la commission. L'introduction de la prestation par la présentation d'un plan a été appréciée ainsi que la production d'un support sous forme d'une diapositive ou d'un diaporama succinct.

3.2. Épreuve pratique expérimentale en laboratoire : étude des micro-algues et de d'un de leurs métabolites

L'épreuve comportait un temps de travail collaboratif et un temps de travail individuel.

3.2.1. Organisation matérielle

Selon le numéro attribué par tirage au sort, les candidats et candidates ont été répartis dans 4 salles de travaux pratiques. Les solutions et le matériel nécessaires aux différentes manipulations étaient au poste de travail. Du matériel supplémentaire était à disposition dans la salle, notamment pour la partie de travail collaboratif.

3.2.2. Présentation de l'épreuve pratique

Les activités expérimentales réalisées par les candidats ont été les suivantes :

- La mise au point, **en équipe**, d'une procédure opératoire de dénombrement de micro-algues ;
- L'isolement de micro-algues dans des billes d'alginate ;
- L'étude de l'effet d'une molécule, sur le cytosquelette de cellules VERO, par épifluorescence.

Un ordre de passage a été imposé aux candidats pour le passage au microscope à épifluorescence, ainsi que pour la bonne synchronisation de la phase de travail en équipe.

Parmi les manipulations à réaliser, certaines mobilisaient des savoir-faire couramment développés dans les enseignements de série STL biotechnologies (réalisation d'un dénombrement sur cellule de Malassez, dilutions, densitométrie, vérification métrologique) D'autres techniques étaient peu, voire pas abordées en formation au lycée (encapsulation de cellule, microscopie à fluorescence, dosage cellulaire indirect) et permettaient d'évaluer les capacités d'adaptation du candidat, qui devait suivre une procédure expérimentale et utiliser des documents techniques fournis avec le sujet.

La capacité d'organisation au laboratoire est un objectif important de la spécialité biochimie, biologie et biotechnologie sur laquelle s'adosse ce concours, et le jury encourage vivement les futurs candidates et candidats à s'y exercer, par exemple en identifiant les temps d'attente de certaines manipulations pour mieux organiser l'ordre des réalisations pratiques.

Le jury a relevé une bonne concertation durant la partie 1 qui nécessitait un travail d'équipe. Les candidates et candidats sont dans l'ensemble entrés de façon satisfaisante dans la démarche collaborative, endossant en fonction des besoins du groupe des rôles de pilotage, de mise en œuvre technique ou d'accompagnement. En revanche, tous ne sont pas parvenus à gérer efficacement la difficulté de se plier à un ordre de passage imposé pour la partie 3.

Les candidates et candidats ont réussi à s'adapter au matériel proposé même s'il ne correspondait pas à celui de leur établissement faisant ainsi la preuve de compétences d'adaptation.

Le jury note quelques manques dans l'application, par certains candidats ou candidates, des mesures de prévention des risques attendues dans un laboratoire de microbiologie.

3.2.3. Les conseils du jury pour réussir l'épreuve pratique

La lecture préalable de l'ensemble du sujet est un atout pour organiser son travail sur le temps de l'épreuve : certaines expérimentations nécessitaient un temps assez long.

Une bonne organisation du poste de travail est indispensable pour la réussite des activités pratiques à conduire.

Les équipements de protection individuelle doivent être utilisés de façon pertinente. Une analyse des risques doit être menée lors de la lecture préalable du sujet pour déterminer les mesures de prévention à mettre en œuvre, y compris pour la gestion des déchets.

Les meilleurs candidats et candidates ont su à la fois mener en autonomie l'ensemble des activités expérimentales individuelles proposées, en analyser le résultat en mobilisant des outils mathématiques et coopérer en équipe.

Le jury salue les qualités d'engagement des candidates et des candidats qui, même confrontés à des difficultés, on fait preuve de persévérance tout au long de la phase d'admission. L'ensemble du jury tient à remercier les candidats et candidates qui se sont impliqués et qui ont mobilisé toutes leurs compétences pour mener au mieux ces épreuves.

4. Quelques repères pour le concours.

4.1. Épreuve d'admissibilité

Nombre de candidats inscrits au concours : 183

Nombre de candidats présents lors de l'épreuve écrite : 169

Nombre de candidats admissibles aux épreuves orales : 12

4.2. Épreuve d'admission

Nombre de candidats présents : 12

4.3. Résultats

Nombre candidats classés : 4

Nombre candidats obtenant un accessit : 4

Nombre de candidats accédant à une mention : 4

BIOCHIMIE-BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale série STL)

ÉPREUVE D'ADMISSION – partie orale – session 2023

Durée : 1 heure préparation
30 min exposé et entretien

Exploitation d'informations scientifiques et présentation d'un travail
de synthèse à l'oral

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé. L'usage de la calculatrice sans mémoire « type collègue » est autorisé.

Les opérations de prélèvement et d'analyse à grande échelle, comme les projets de la fondation TARA Océans, permettent d'envisager la compréhension des rôles des différents organismes dans des mécanismes complexes à l'échelle des écosystèmes.

- **Partie 1 : Conférence du 25 mai 2023**

La conférence qui vous a été présentée ce matin illustre des mécanismes biologiques et biochimiques dont l'exploration, en appui sur les données de TARA et des données expérimentales en laboratoire, peuvent permettre de mieux comprendre certains rôles des micro-organismes à l'échelle globale.

« Présenter, en dix minutes ou moins, les principaux éléments que vous avez compris et retenus de la conférence. »

- **Partie 2 : Exploitation de documents (dix minutes d'exposé ou moins)**

En vous aidant des documents fournis, répondez à la question suivante :

« Quels sont les enjeux de la culture des micro-organismes incultivables du microbiome ? »

- **Document 1 : Éléments de définition du microbiome**, extrait de l'article « Microbiome definition re-visited : old concepts and new challenges ».
- **Document 2 : Méthodes d'étude du fonctionnement du microbiome**, figure 5 du même article.
- **Document 3 : Extrait de la communication commerciale de l'entreprise Cerba « Analyse du microbiote par séquençage haut débit »**
- **Document 4 : Extrait de l'article « Quelle stratégie pour les micro-organismes incultivables »**, par V. BOUGEANT.

- **Partie 3 : L'épreuve se terminera par un temps d'entretien sur votre projet d'études et votre projet professionnel.**

Document 1 : Éléments de définition du microbiome

extrait de l'article « *Microbiome definition re-visited : old concepts and new challenges* » de Berg et associés.

source : <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

Microbiota is usually defined as the assemblage of living microorganisms present in a defined environment. As phages, viruses, plasmids, prions, viroids, and free DNA are usually not considered as living microorganisms, they do not belong to the microbiota. The term microbiome, as it was originally postulated by Whipps and coworkers, includes not only the community of the microorganisms, but also their “theatre of activity.” [...]

Therefore, all mobile genetic elements, such as phages, viruses, and “relic” and extracellular DNA, should be included in the term microbiome, but are not a part of microbiota (**Fig.1**).

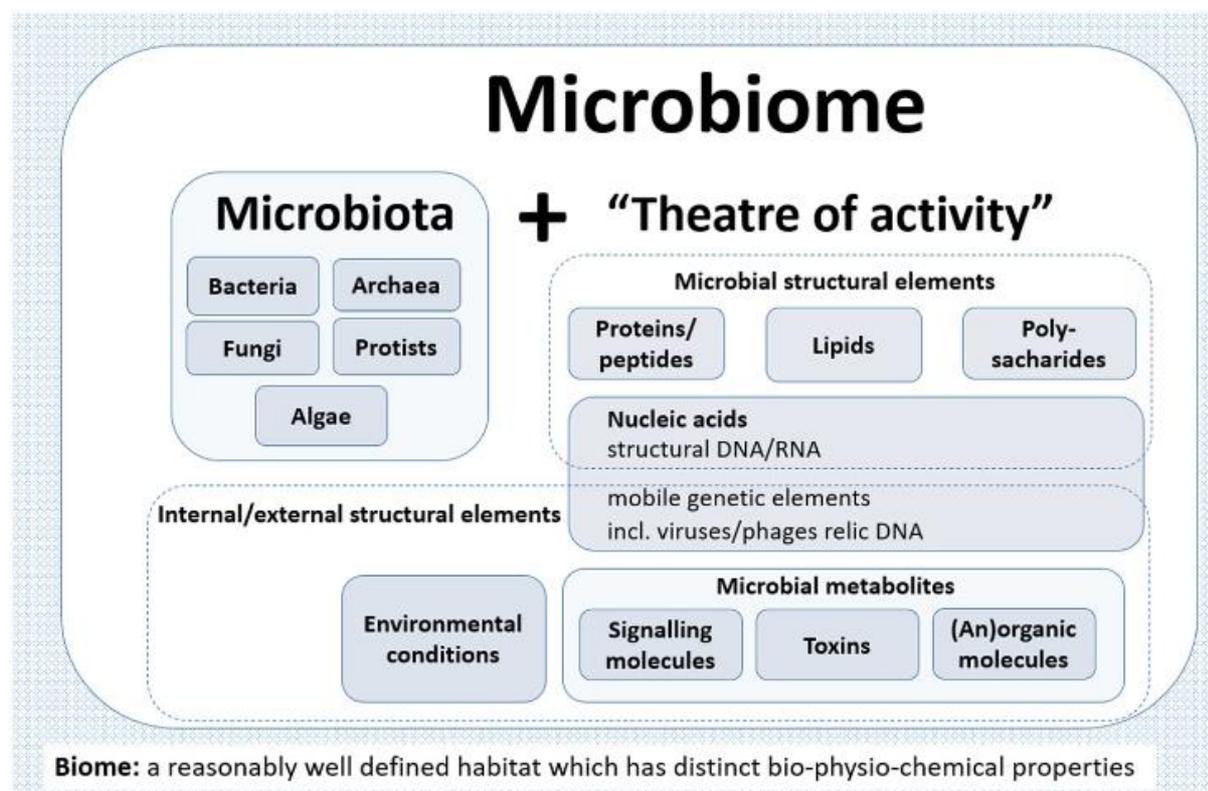


Figure 1 : Représentation schématique du microbiome selon la définition de Berg et associés.

Document 2 : Méthodes d'étude du fonctionnement du microbiome

figure 5 de l'article « *Microbiome definition re-visited : old concepts and new challenges* »

source : <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

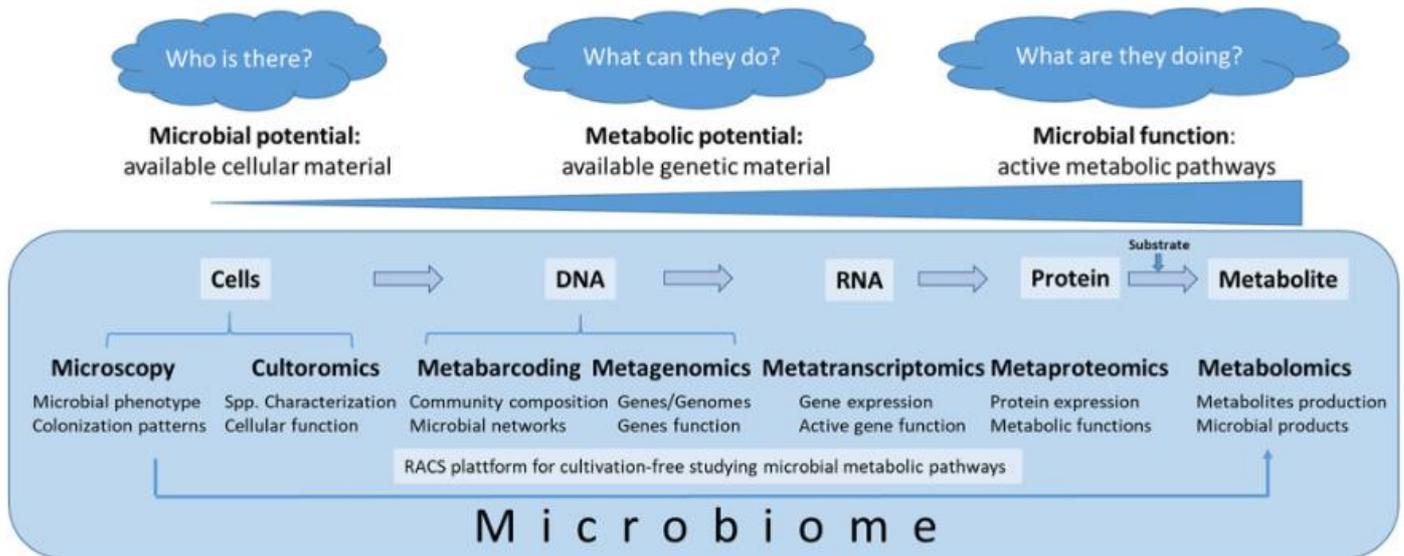
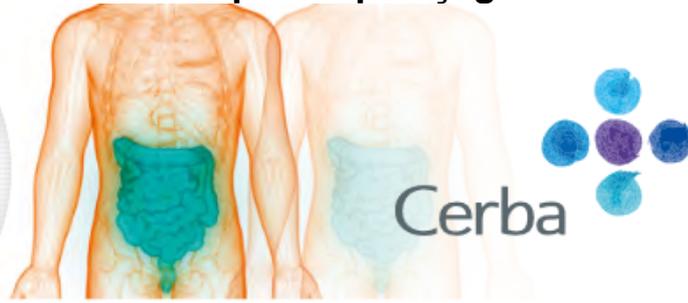


Fig. 5 Methods for assessing microbial functioning. Complex microbiome studies cover various areas, starting from the level of complete microbial cells (microscopy, culturomics), followed by the DNA (single cell genomics, metabarcoding, metagenomics), RNA (metatranscriptomics), protein (metaproteomics), and metabolites (metabolomics). In that order, the focus of the studies shifts from the microbial potential (learning about available microbiota in the given habitat) over the metabolic potential (deciphering available genetic material) towards microbial functioning (e.g., the discovery of the active metabolic pathways)

Document 3 : Extrait de la communication commerciale de l'entreprise Cerba « Analyse du microbiote par séquençage haut débit »

Analyse du microbiote par séquençage haut débit



Le laboratoire lance un nouveau test d'analyse du microbiote intestinal s'appuyant sur des techniques de séquençage haut débit, dont les applications potentielles s'annoncent prometteuses.

La technique NGS (Next Generation Sequencing) permet l'analyse conjointe du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S des bactéries et de la région ITS des agents fongiques, grâce à des centaines de milliers de copies de séquences d'ADN. Les séquences obtenues sont comparées à des séquences connues de gènes bactériens, ou fongiques, grâce à l'algorithme Silva (97%).

Ce nouvel examen réalisable sur selles permet de déterminer respectivement la cartographie des flores bactérienne et fongique dans l'intestin y compris celles non cultivables.

Cette technique, du fait de sa précision et son exhaustivité représente donc une véritable évolution par rapport aux tests en culture proposés jusqu'ici.



Pourquoi choisir de réaliser ce test chez Cerba?

Séquencer la région ITS (agents fongiques) par rapport à d'autres stratégies 16S

Une cartographie exhaustive de la flore intestinale

Une offre de paramètres métaboliques complémentaires pour approfondir l'interprétation

Une technique répétable, reproductible, validée, maîtrisée et qui répond à tous les critères de la norme EN ISO 15189

Un temps de rendu optimisé

Choisir les régions utiles par rapport à la question posée (comparaison des régions V3-V4 par rapport à d'autres régions comme V1-V2, V2-V3, V4-V5, V7-V9)



Analyse du microbiote par séquençage haut débit



En pratique :

- Délai de rendu de résultat : 21j
- Conditions préanalytiques :
 - 1- Selles congelées (de préférence)
 - ou
 - 2- Kit de prélèvement spécifique DNA Genotek



Résultats :

- Format de votre compte rendu : un tableau excel contenant l'ensemble des données pour une vision exhaustive de la flore intestinale
- Composition de la flore avec détail des phylum : *Bacteroidetes* / *Firmicutes* / *Proteobacteria* / *Actinobacteria* / *Autres*
- Composition de la flore avec le détail des familles, genre, espèces : *Bactéries (16S)* / *Fungi (ITS)*
- Description de la diversité : *Alpha-diversité* / *Bêta-Diversité (en présence d'antériorité)*



Paramètres métaboliques supplémentaires :

- Examen microscopique des selles
- Mesure de pH
- Dosage des acides organiques
- Dosage de la Calprotectine
- Dosage de la Zonuline

Document 4 : QUELLES STRATÉGIES POUR LES MICRO-ORGANISMES «INCULTIVABLES» extrait adapté, autrice Véronique Bougeant.

Il est encore difficile de nos jours de pouvoir caractériser l'ensemble des micro-organismes vivants en communauté dans un milieu complexe comme par exemple ceux demeurant dans l'océan.

Les méthodes traditionnelles d'identification et de culture standard ont montré leurs limites et ne permettent de mettre en évidence qu'une minorité des micro-organismes d'un milieu complexe. 90 % restent « incultivables ». La diversité des communautés bactériennes est inévitablement sous-estimée.

Les chambres de diffusion

Une approche alternative pour la culture des « incultivables » [...] a permis de mettre en œuvre une culture de micro-organismes en simulant leur environnement naturel.

Les chercheurs ont construit une chambre de diffusion permettant le passage de substances de leur milieu naturel vers le milieu de culture. L'étude s'est intéressée aux organismes de sédiments marins dont la couche supérieure contient un grand nombre de micro-organismes inexplorés.

La chambre de diffusion est composée d'un anneau circulaire en acier inoxydable entouré de deux membranes poreuses de polycarbonate comprenant des pores de 0,03 μm . L'échantillon analysé est mélangé à de l'agar à 45 °C puis est placé sur la membrane inférieure. Après solidification de l'agar, la seconde membrane est collée sur la face supérieure de l'anneau (**fig 1A**). L'ensemble est ensuite placé dans un aquarium sur des sédiments marins.

La membrane inférieure est au contact des sédiments tandis que la membrane supérieure est au contact de l'eau de mer (**fig 1B**). Les deux membranes permettent ainsi des échanges de molécules entre les micro-organismes présents dans la chambre et leur habitat naturel.

Finalement, l'utilisation des chambres de diffusion a montré que ce dispositif permettait d'isoler plus de 300 fois plus de colonies qu'en ensemencant directement les prélèvements sur gélose traditionnelle.

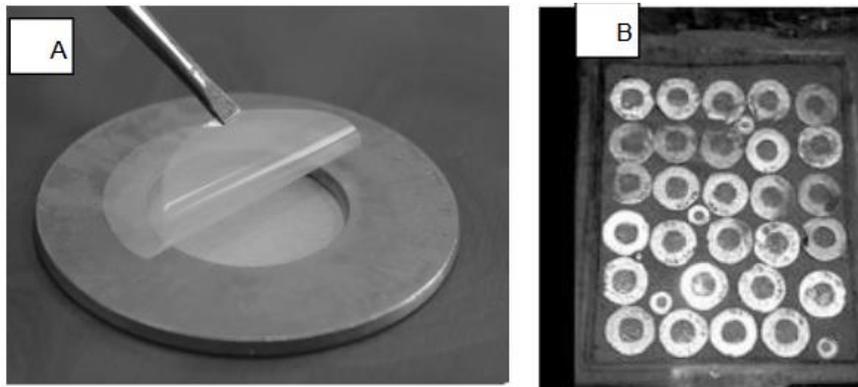


Figure 1: (A) Chambre de diffusion pour la culture *in situ* de microorganismes de l'environnement. (B) Chambres de diffusion déposées et incubées à la surface de sédiments marins.

BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale série STL)

ÉPREUVE D'ADMISSION – partie pratique - Session 2023

Durée : 4 heures

Résolution expérimentale d'un problème scientifique

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé. L'usage de la calculatrice sans mémoire « type collègue » est autorisé.

La Fondation Tara Océan, dédiée à la préservation des océans et à l'exploration des ressources biologiques océaniques, s'est imposée comme un acteur majeur de la recherche marine et environnementale. Ainsi, la collecte de nouvelles espèces de microalgues, alimente la recherche sur la production de biocarburants, répondant ainsi aux enjeux énergétiques. L'étude des propriétés de nouvelles molécules à partir de coraux ou d'éponges présente quant à elle un intérêt en termes de santé publique.

Le sujet s'organise en 3 parties selon deux thématiques :

Thématique 1 : Étude des microalgues :

À partir d'un organisme modèle, *Chlamydomonas*, deux techniques seront étudiées

- Partie 1 : Mise au point, en équipe, d'une procédure opératoire de dénombrement de microalgues.
- Partie 2 : Isolement de microalgues dans des billes d'alginate.

Thématique 2 : Étude d'une molécule présentant des propriétés anti-mitotique

- Partie 3 : Étude de l'effet d'une molécule sur le cytosquelette de cellules VERO par épifluorescence,

Les réalisations pratiques peuvent nécessiter l'utilisation des EPC (équipement de protection collective) et des EPI (équipement de protection individuelle). La gestion des déchets est sous la responsabilité du candidat, sauf indication contraire par les examinateurs.



Partie 1 - Mise au point d'une procédure opératoire en équipe : dénombrement de *Chlamydomonas*

*La réalisation de cette première partie se déroule en équipe de 3 candidats ou candidates. Elle est limitée à **90 minutes** et se fera selon un planning indiqué en début de séance.*

Pour cultiver les microalgues dans de bonnes conditions, il est nécessaire de connaître leur concentration cellulaire.

Vous disposez d'une suspension de concentration inconnue en *Chlamydomonas* cc-5325 en culture dans du milieu TAP, notée *Ch11*.

Comme dans tout laboratoire de recherche, nous vous demandons de **travailler en équipe** et de vous organiser pour répondre à l'objectif suivant :

Mise au point d'une procédure opératoire permettant d'établir une correspondance entre concentration cellulaire et atténuation mesurée au spectrophotomètre.

Vous devez également procéder chacun ou chacune

- à une observation microscopique **préalable** au travail en équipe
- à un dénombrement en cellule de Malassez, ou C-chip, **à l'issue du travail en équipe**.

Organisation :

Toutes planifications et répartitions des différentes phases de travail envisagées doivent être validées par le jury.

Différents supports et matériels sont à disposition dans la salle pour répondre à cet objectif. Il est possible de demander au jury du matériel supplémentaire en argumentant les choix.

Rapport d'activité :

Un **rapport commun** est demandé dans lequel vous rendrez compte de vos différentes démarches, de vos résultats et de vos conclusions.

Le document 1 présente la feuille de route des activités de la partie 1.

Réalisation d'une suspension ajustée permettant d'inclure une micro-algue par bille d'alginate.

Q1. Sachant qu'une bille d'alginate a un volume d'environ 20 μL , calculer la concentration cellulaire de la suspension en alginate à préparer pour obtenir 1 *Chlamydomonas* par bille.

Le document 2 présente les matériels et réactifs ainsi que des éléments de procédure opératoire pour la réalisation d'une suspension de micro-algues en alginate.

Q2. Calculer le volume de la suspension de *Chlamydomonas Chl2* à prélever pour préparer 50 mL d'une suspension de micro-algues en alginate.

Remarque : *il peut être nécessaire de réaliser une ou des dilutions intermédiaires en eau physiologique.*

Q3. Établir le schéma d'une procédure opératoire permettant la préparation de 50 mL de suspension ajustée.

Appeler l'examineur ou l'examinatrice pour valider la proposition.

T1. Ajuster la suspension conformément au mode opératoire proposé.

Encapsulation des micro-algues en billes d'alginate

Le document 3 présente la procédure opératoire de l'encapsulation de micro-algues en billes d'alginate.

Q4. Mener une démarche d'analyse des risques *a priori*.

Q5. Conclure sur le ou les points critiques de la manipulation.

T2. Effectuer l'étape d'encapsulation des micro-algues en billes d'alginate.

Vérification de l'efficacité de la technique d'encapsulation en billes d'alginate

L'objectif de cette étape est de vérifier si la technique permet d'obtenir des billes contenant une seule cellule.

Pour cela, on réalise¹ un dosage de la quantité d'un sous-produit métabolique excrété. Le test est quantitatif : le signal obtenu est proportionnel au nombre de cellules contenu dans chaque bille.

Le document 4 présente la procédure opératoire permettant d'effectuer la vérification de la technique d'encapsulation.

Le document 5 présente le spectre d'absorption du produit de la réaction ainsi que les différentes longueurs d'ondes paramétrables sur le lecteur de plaque.

Q6. Déterminer la longueur d'onde à utiliser sur le lecteur de plaque. Argumenter la réponse.

T3. Effectuer la vérification de la technique d'encapsulation

Q7. Déterminer, en argumentant la réponse, le ou les puits présentant un intérêt pour effectuer le séquençage.

Q8. Conclure sur l'efficacité de la technique d'encapsulation.

¹ Le test effectivement réalisé est une modélisation d'un dosage permettant d'estimer le nombre de cellules viables.

Partie 3 - Étude de l'effet d'une molécule anti-mitotique

La mission Tara pacifique a permis d'identifier de nouvelles molécules extraites de coraux ou d'éponges marines et présentant des activités anti-mitotiques intéressantes pour la lutte antitumorale.

L'étude de ces propriétés antimitotiques peut s'effectuer au travers d'un marquage du cytosquelette des cellules animales par une technique d'immunofluorescence explicitée **document 6**.

Le **document 7** présente les résultats obtenus pour l'éribuline, molécule dont les propriétés antimitotiques sont déjà connues.

On étudie une molécule « x » aux propriétés anti-mitotiques. L'objet de cette étude est de déterminer si cette molécule agit comme l'éribuline en bloquant la mitose par action sur la polymérisation de la tubuline.

Un marquage a été réalisé sur des cellules VERO n'ayant subi aucun traitement et sur des cellules traitées pendant 24h par la molécule « x ». Vous disposez des matériels et ressources suivants :

- Microscope à épifluorescence
- Lame d'observation (cellules VERO avec marquage tubuline et ADN)
- Fiche Technique pour l'utilisation du microscope et l'acquisition d'image
- Fiche Technique pour le traitement d'images

Observation des cellules traitées et analyse de l'aspect des cellules suite à l'acquisition des images d'épifluorescence.

La réalisation de l'acquisition d'image sur microscope à fluorescence se fera selon un planning indiqué en début de séance.

Répondre aux questions Q9 et Q10 avant le passage au microscope.

Les spectres d'excitation et d'émission du DAPI et de l'AlexaFluor 488 sont fournis dans le **document 8**.

Q9. Déterminer les longueurs d'onde d'excitation et d'émission maximales pour DAPI et AlexaFluor 488.

Q10. Grâce aux caractéristiques des cubes filtres du microscope à épifluorescence fournis dans le **document 9**, identifier les cubes adaptés pour la visualisation respective du DAPI ou de l'AlexaFluor488. **En discuter avec l'évaluateur ou l'évaluatrice au moment du passage au microscope.**

T4. Mener l'observation de la lame et effectuer l'acquisition d'images en suivant la fiche technique : *Utilisation du microscope à épifluorescence*.

T5. Effectuer une superposition des signaux de fluorescence (tubuline et ADN) en suivant la fiche technique : *Traitement d'image d'épifluorescence*.

Q11. Comparer le résultat de votre observation aux images de référence fournies.

Q12. Conclure quant à l'effet de la molécule « x » sur les microtubules.

Document 1 : feuille de route de la partie 1

Feuille de route	Ressources disponibles dans le laboratoire	Étapes à faire valider par le jury
<u>De façon individuelle</u> : Observation microscopique préparatoire au dénombrement	Fiche descriptive de 2 produits disponibles au laboratoire (bleu de méthylène, solution glucose)	Faire valider l'observation au jury
<u>De façon individuelle</u> Dénombrement en cellule de Malassez	Fiche technique hématimètre de Malassez Fiche technique C-chip Aide mémoire de métrologie $sr = 0,05 \cdot 10^6 \text{ cellules.mL}^{-1}$ $uc = 0,2 \cdot 10^6 \text{ cellules.mL}^{-1}$	Faire valider au jury l'observation à l'objectif X10
Choix de la longueur d'onde de travail	Fiche descriptive du spectre du milieu nonensemencé et du spectre du milieu ensemencé par la souche	A faire valider au jury
Mesure d'une atténuation exploitable	Fiche technique du spectrophotomètre	
Établir la correspondance concentration cellulaire en <i>Chlamydomonas</i> et atténuation		Présenter sur le rapport commun la démarche de résolution suivie : la ou les difficultés techniques identifiées, la ou les hypothèses et solutions proposées, les tests et calculs éventuels ayant permis d'obtenir une mesure d'atténuation exploitable et d'établir la correspondance

Document 2 : préparation d'une suspension ajustée de *Chlamydomonas*

Matériel et réactifs

- Suspension de *Chlamydomonas Chl2* ; $c_{(Chl2)} = 4,0 \cdot 10^6$ cellule.mL⁻¹
- Bec Hoffman
- Pipette automatique P100 + cônes stériles
- Pipette automatique P1000 + cônes stériles
- Poubelle cônes
- 3 tubes à hémolyse vides stériles
- 50 mL d'alginate stérile à 0,5 % dans un flacon de 100 mL
- 10 mL d'eau physiologique stérile

Procédure opératoire

- Préparer 50 mL de suspension ajustée à 1 *Chlamydomonas* par bille dans une solution d'alginate 0,5 % selon le protocole proposé en Q3.
- **Homogénéiser le flacon délicatement 20 fois par retournement.**

Document 3 : Encapsulation en billes d'alginate

Matériel et réactifs

- Suspension bactérienne ajustée de *Chlamydomonas* précédemment préparée dans l'alginate
- Bec Hoffman
- 100 mL de CaCl_2 à 2 % stérile
- Bécher de 200 mL
- Agitateur magnétique + barreau aimanté
- Poubelle liquide
- Poubelle DASRI
- Boîte de Pétri vide stérile
- Pipette compte-goutte stérile
- Seringue de 10 mL
- Aiguille de taille 20G
- Flacon de 100 mL d'eau distillée stérile
- Tube Falcon de 50 mL
- Chinois (passoire) stérile
- Spatule stérile
- Fond noir papier

Procédure opératoire

- Installer en zone d'asepsie un bécher 100 mL de CaCl_2 à 2 % sous agitation douce.
- A l'aide d'une seringue sans l'aiguille, prélever environ 5 mL de la suspension ajustée en alginate.
- Mettre l'aiguille avec son bouchon en place sur la seringue.
- Enlever le bouchon de l'aiguille.
- Faire tomber délicatement des gouttes dans le bécher en exerçant une pression régulière sur le piston de la seringue (environ 2 gouttes par seconde).
- Former environ 100 billes.
- Éliminer l'aiguille et la seringue de manière adaptée.

- Laisser sous agitation douce pendant 5 min à la température ambiante.
- Éliminer le CaCl_2 par versement dans le chinois, au-dessus de la poubelle liquide.
- Transférer les billes d'alginate dans un tube Falcon 50 mL en vous aidant de la spatule.
- Ajouter environ 30 mL d'eau stérile et homogénéiser par retournement.
- Éliminer le surnageant dans la poubelle de paille. **Ne pas faire tomber les billes.**
- Réaliser à nouveau cette étape de lavage 2 fois.
- Transférer les billes d'alginate dans une boîte de Pétri stérile et ajouter quelques mL d'eau distillée.
- Annoter correctement la boîte de Pétri.

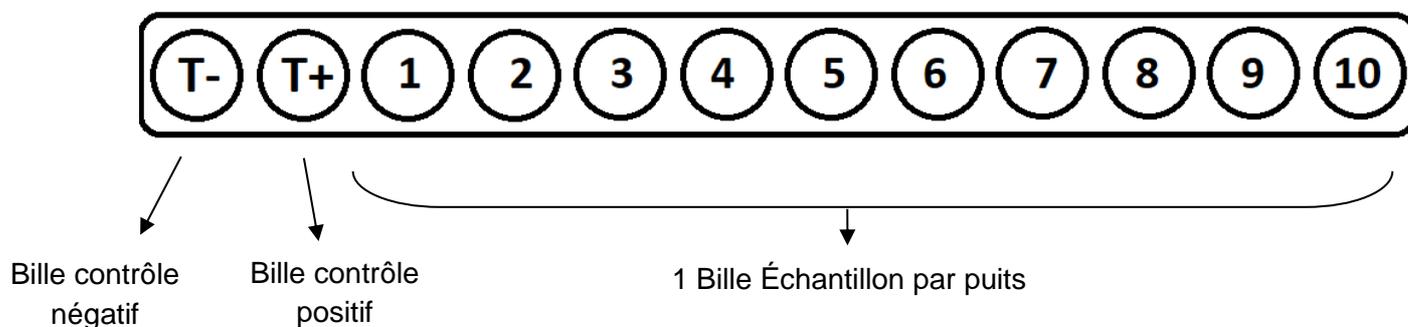
Document 4 : vérification de l'efficacité de la technique d'encapsulation

Matériel et réactifs

- Boîte de Pétri contenant les billes d'alginate précédemment préparées
- Pipette compte-goutte
- Plaque 96 puits à fond plat
- P100, P200 + cônes
- Réactif de dosage cellulaire, 2 mL
- Lecteur de plaque multipuits
- Boîte de Pétri contenant des billes calibrées avec 1 cellule par bille (contrôle positif)
- Boîte de Pétri contenant des billes sans cellule (contrôle négatif)

Procédure opératoire

- Préparer une ligne sur une plaque 96 puits selon le plan ci-dessous :



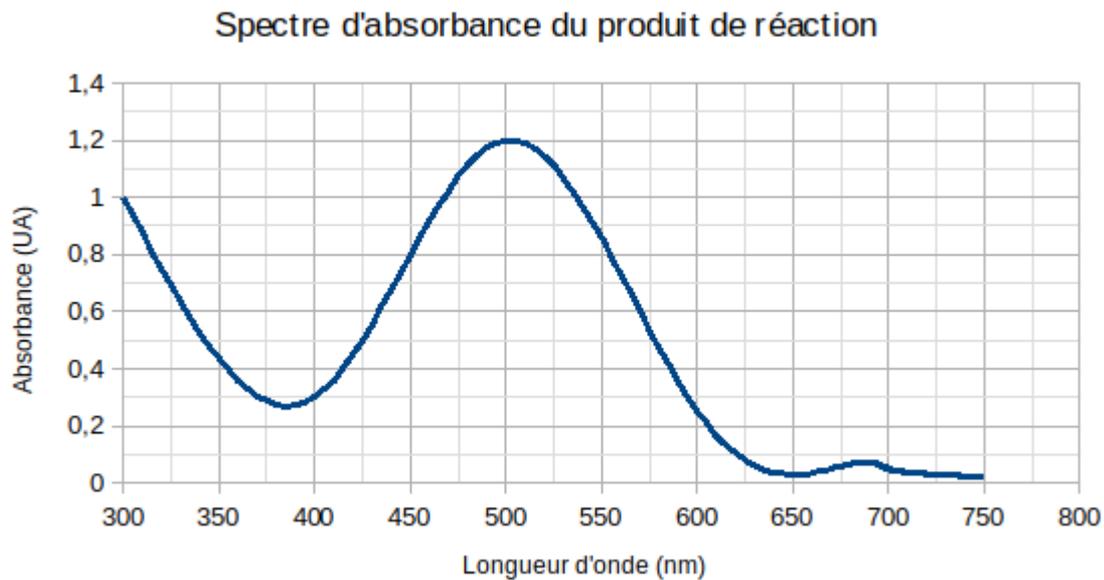
- Placer une bille par puits à l'aide de la pipette compte-goutte
- Éliminer le liquide résiduel à l'aide d'une pipette automatique.
- Ajouter 150 μ L du réactif de dosage dans chacun des puits.
- Donner la plaque à l'examineur pour une incubation de 5 à 10 minutes.
- Transférer 100 μ L de surnageant dans le puits de la ligne du dessous afin que la bille d'alginate n'interfère pas dans la lecture d'absorbance.
- A l'aide de l'examineur ou l'examinatrice, réaliser la lecture de l'absorbance sur le lecteur de plaque à la longueur d'onde choisie.

Document 5 : données relatives à l'utilisation du spectrophotomètre lecteur de plaque

Tableau des longueurs d'onde disponibles sur le spectrophotomètre lecteur de plaques.

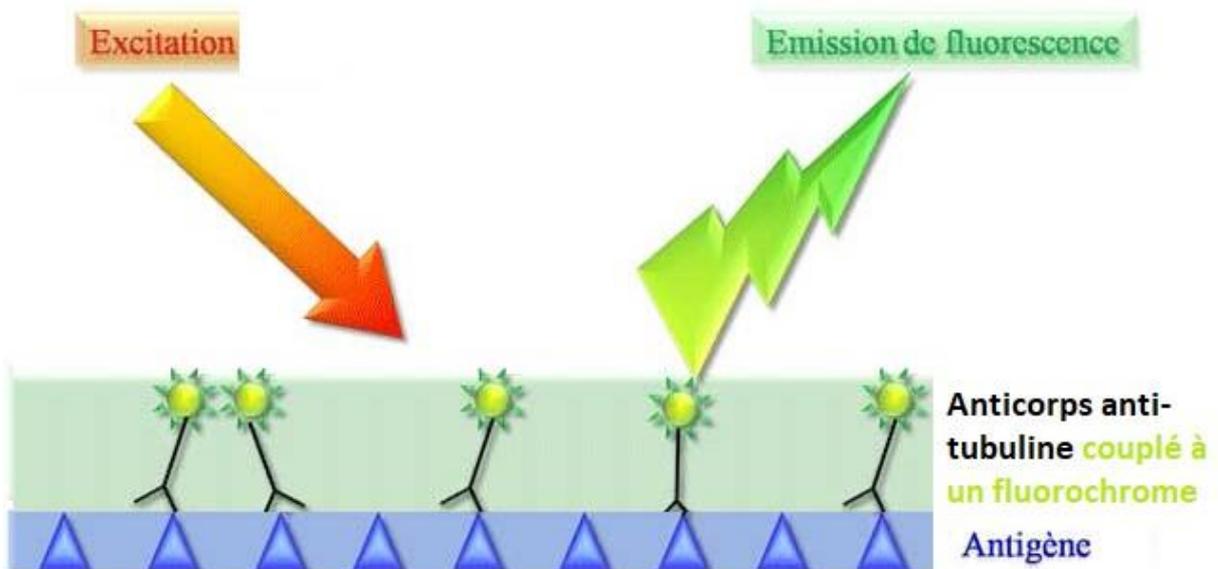
Longueurs d'onde de travail du lecteur de plaque
415 nm
450 nm
490 nm
595 nm
655 nm
750 nm

Spectre d'absorption du produit de réaction formé lors du dosage des sous-produits métaboliques.



Document 6 : Principe du marquage du cytosquelette par fluorescence

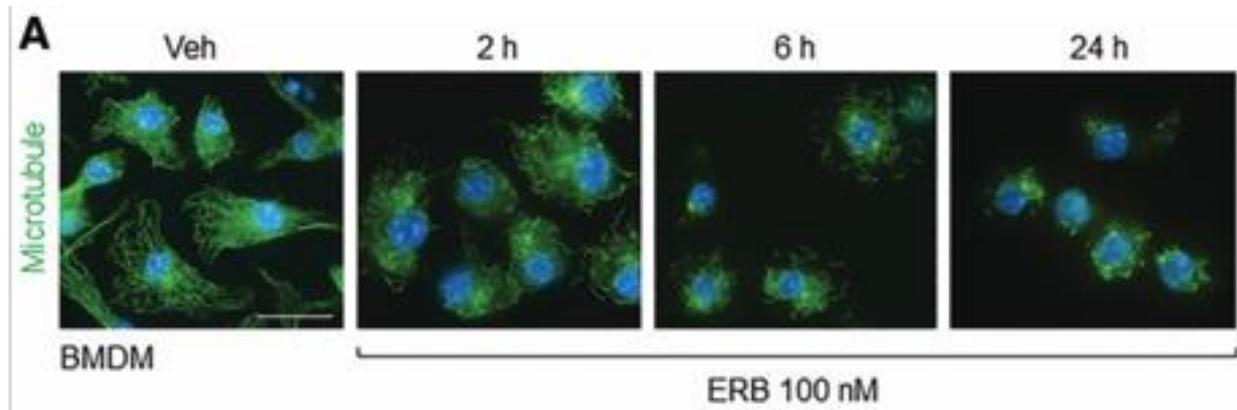
Un marquage d'une partie du cytosquelette des cellules eucaryotes est possible grâce à l'utilisation d'anticorps anti-tubuline sur lequel est fixé un fluorochrome, molécule qui émet une lumière de longueur d'onde spécifique après excitation par une lumière de longueur d'onde inférieure.



Pour visualiser l'organisation des microtubules dans une cellule, des anticorps anti-tubulines couplés à l'AlexaFluor-488 (fluorochrome qui émet une lumière verte après excitation) sont fréquemment utilisés conjointement à un marquage de l'ADN des noyaux par le DAPI (4',6-diamino-2-phénylindole qui émet une lumière bleue après excitation).

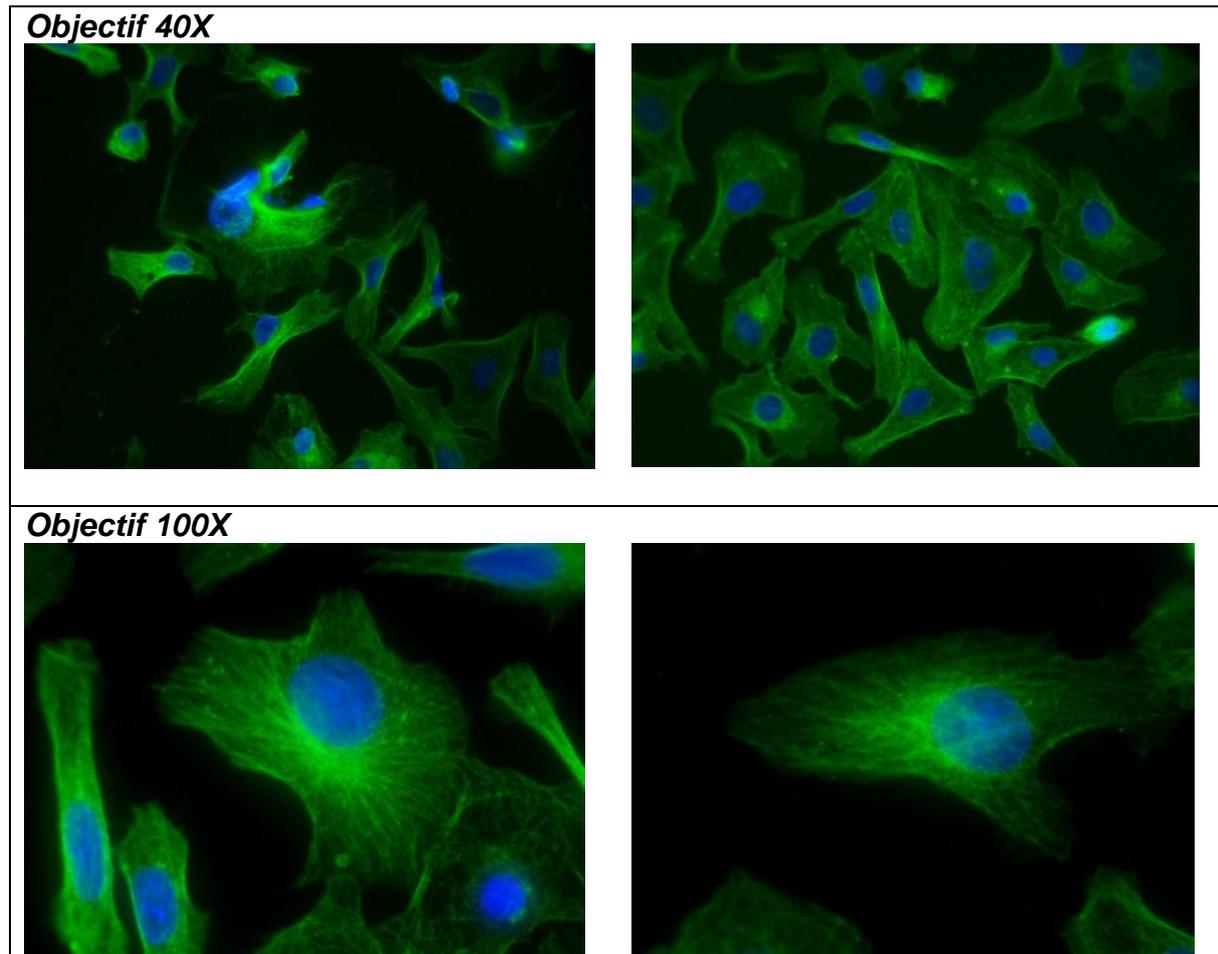
Document 7 : images de référence pour la microscopie de fluorescence

A. Rappel de l'effet de l'éribuline sur les microtubules. Immunofluorescence des microtubules (vert) et de l'ADN (bleu) dans des cellules BMDM traitées avec 100 nM d'éribuline (ERB) pendant 2, 6 ou 24 heures par rapport au DMSO (Veh). Barre d'échelle, 10 μ m.



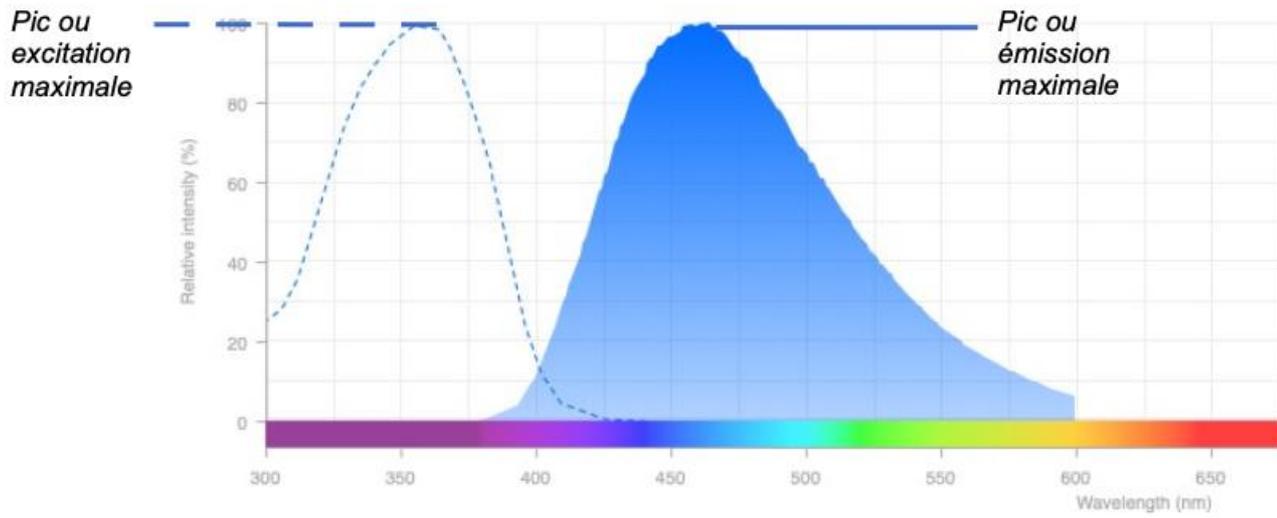
Source : *Eribulin Activates the cGAS-STING Pathway via the Cytoplasmic Accumulation of Mitochondrial DANS*. Fermaintt et al. 2021

B. Aspect général sans traitement des cellules Vero utilisées dans votre expérience. Immunofluorescence des microtubules (vert) et de l'ADN (bleu) dans les cellules Vero.

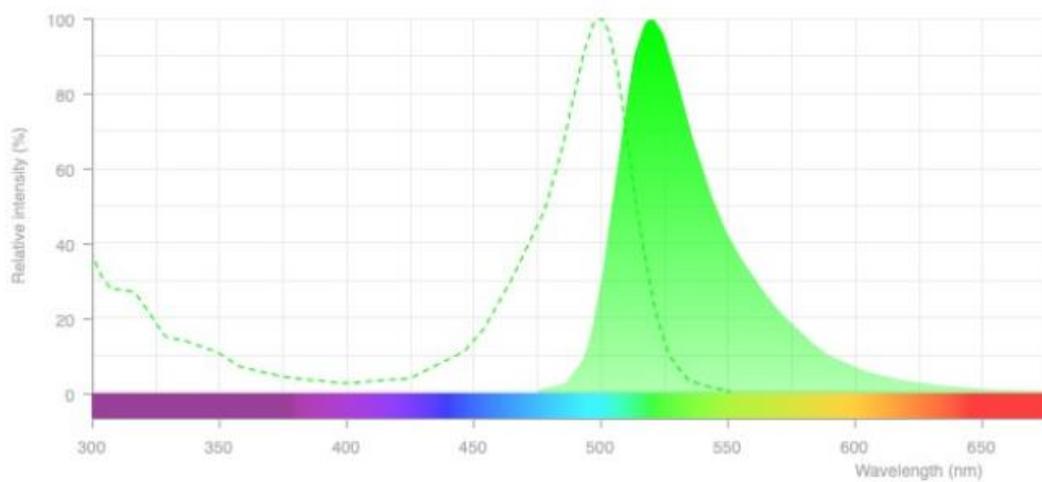


Document 8 : Caractéristiques des fluorochromes utilisés

Spectre d'excitation et d'émission du DAPI lié à de l'ADNdb



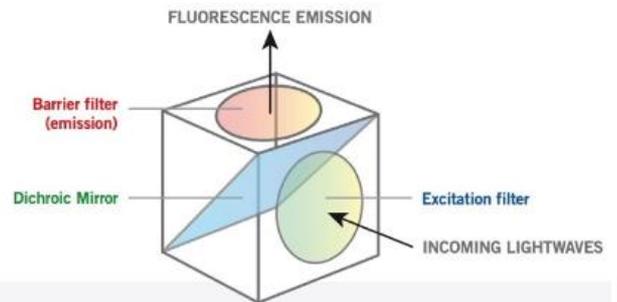
Spectre d'excitation et d'émission de l'Alexa 488



Document 9 : Caractéristiques des cubes filtres du microscopie épifluorescence

A standard Fluorescence filter cube consists of a combination of 3 independent yet inter-coordinated filters:

- Excitation filter
- Dichroic Mirror
- Barrier filter (emission)



Cubes filtres disponibles

Violet excitation	EX380-415 (BP) DM460 EM475 (LP)
UV excitation	EX320-380 (BP) DM420 EM435 (LP)
Green excitation	EX495-555 (BP) DM580 EM595 (LP)
Blue excitation	EX450-490 (BP) DM505 EM515 (LP)

Légende : BP BandPass filter EM Emission filter = Barrier filter
 LP LongPass filter DM Dichroic mirror
 EX Excitation filter

FILTER CUBE ORIENTATION

