

CONCOURS EXTERNE
DE TECHNICIEN PRINCIPAL
DE POLICE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE
DE LA POLICE NATIONALE

SESSION 2017

BIOLOGIE

**Épreuve écrite de connaissances
se rapportant à la spécialité choisie**

Durée de l'épreuve : 3 heures – Coefficient : 2

Il vous appartient de vous assurer que le sujet en votre possession comporte la totalité des pages (9 pages).

Il vous est demandé de répondre avec clarté à chaque question, sur votre feuille de composition (coin gommé).

Les annexes en page 9 sont à rendre avec votre feuille de composition.

Vous rendrez le sujet dans son intégralité avec votre feuille de composition

Matériel autorisé : - calculatrice non programmable, non alphanumérique

Le sujet est noté sur un barème total de 60 points ; la note finale sera exprimée sur 20 points.

Sous peine d'annulation de leur épreuve, les candidats ne devront faire apparaître aucun signe ou mention pouvant permettre l'identification des copies , intercalaires, annexe et sujet.

Partie 1 : Biologie moléculaire (20 points)

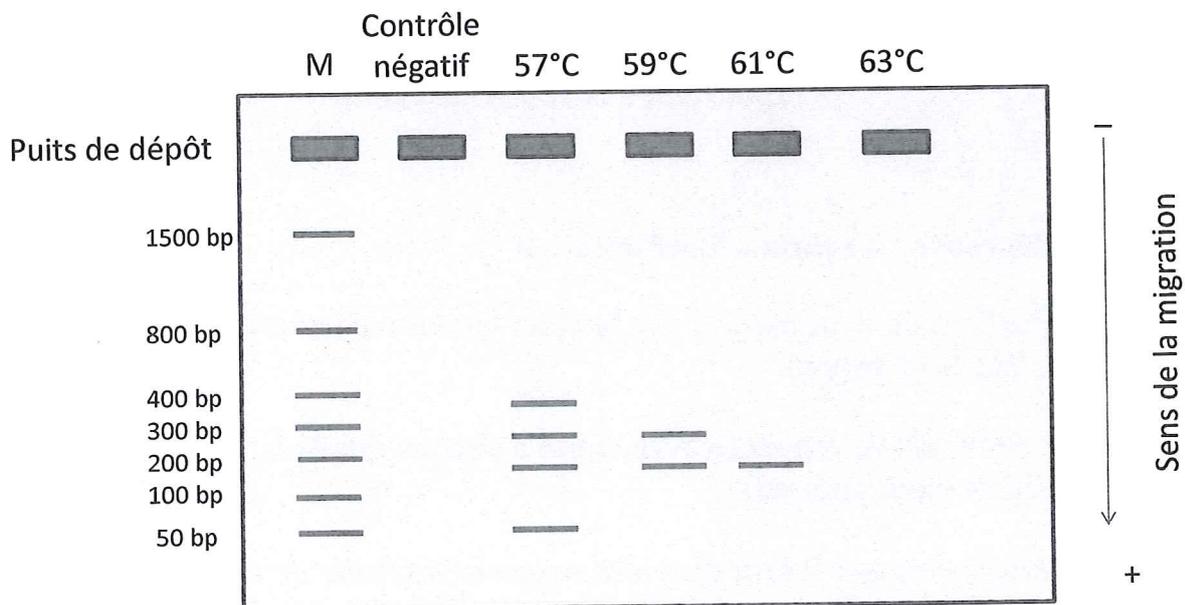
Un laboratoire s'intéresse à l'étude d'un gène de 150 pb (en italique, ligne 2 et 3 de la séquence) qui code pour une protéine. La séquence est connue et est présentée ci-dessous.

TCTTTCGCTAGTAGATCTAGTCCTTTTTTTTCTTCTGGTTCTGTCTGATCTGAATTCAGGTCTAGGTCTCTTAG
TTCATGTCTGATCATTTTAGTACTGATCTTTTTAGCATCGGGCCCTATCTGGGGGATCTTGAATTCGCATATAGA
GAATTAGATCTATTATATATAGCTGCTAGCTCACGTTTAAGCTACTTATTCTCGGTATATCGGCCCGGGTATTA
TCTGTCATGTCATTTAATGTACTGTACCCTTAAGAATTCAGGGTTGGTTGGTTGGTCCTAGCTAGCTAATGCTAC

Dans un premier temps, vous voulez amplifier par PCR ce gène et cherchez les conditions optimales d'amplification.

Question 1 : Les positions des amorces sur la séquence qui vont vous permettre d'amplifier ce fragment sont soulignées. Donnez les séquences de ces amorces en les orientant 5'----->3'.

On réalise les PCR sur un ADN référent (très bonne qualité) à différentes température d'hybridation (57°C, 59°C, 61°C et 63°C). Les produits d'amplification sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose. Les résultats sont présentés dans la figure suivante.



Question 2 : Rappelez les différentes étapes pour réaliser une PCR et les différentes températures associées.

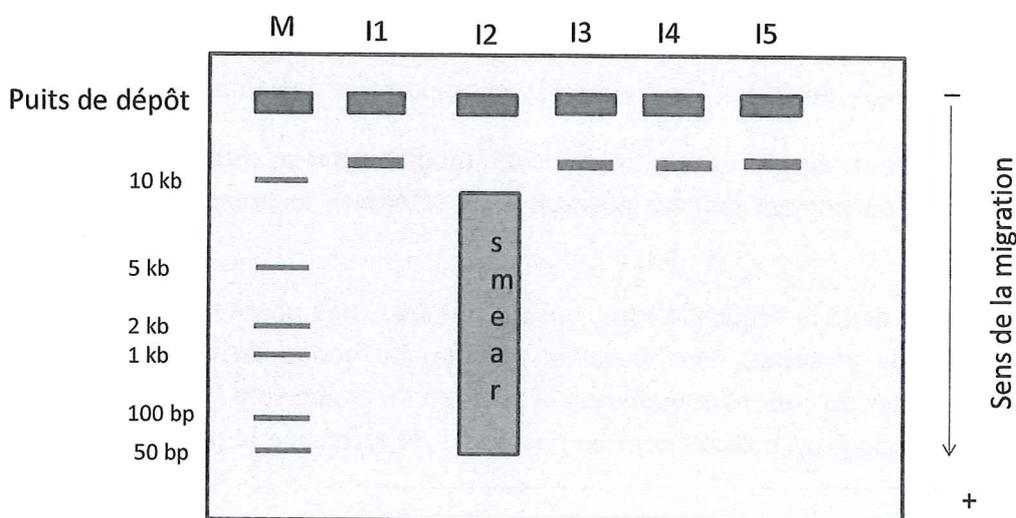
Question 3 : Interprétez les résultats (M = marqueur de taille, contrôle négatif = PCR réalisée sur un échantillon ne contenant pas d'ADN avec la température d'hybridation de 61°C). Que pouvez-vous conclure sur la température optimum à utiliser ?

Question 4 : A quoi sert le contrôle négatif ?

Question 5 : Comment procédez-vous pour vérifier que le fragment amplifié correspond bien à ce que vous attendez ?

On désire étudier ce même gène chez 5 individus (I1, I2, I3, I4, I5) en utilisant la température d'hybridation optimum choisie précédemment. Les ADN sont extraits à partir d'un prélèvement sanguin et leur quantité et qualité sont vérifiées par spectrophotométrie (tableau ci-dessous) et par électrophorèse sur gel d'agarose qui est présentée également ci-dessous.

	mesures d'absorbance		
	260 nm	280 nm	230nm
I1	0,20	0.1	0.1
I2	0.4	0.18	0.15
I3	0.8	0.8	0.6
I4	0.5	0.25	0.25
I5	0.3	0.14	0.15

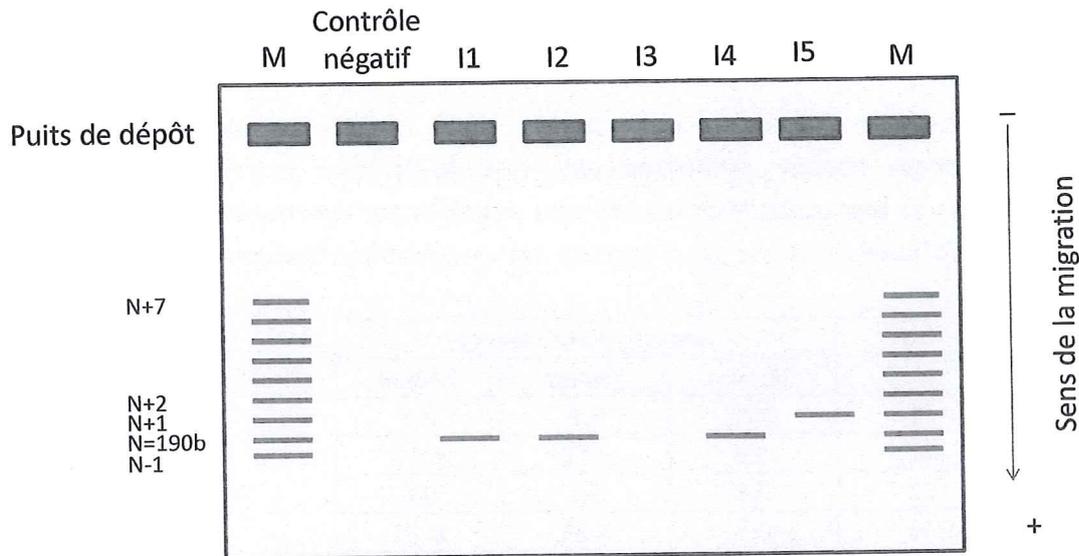


Question 6 : Que mesure-t-on à 260 nm, 280 nm et 230 nm et avec les valeurs des rapports 260nm/280nm et 260nm/230nm ?

Question 7 : Que pouvez-vous déduire sur la pureté des ADN à partir des données du tableau ci-dessus ?

Question 8 : Que pouvez-vous déduire sur l'intégrité des ADN à partir de l'électrophorèse ci-dessus ?

Les produits d'amplifications de chacun des individus sont analysés sur gel d'acrylamide. Les résultats sont présentés ci-dessous.



Question 9 : Pourquoi utiliser un gel d'acrylamide à la place d'un gel d'agarose ?

Question 10 : Interprétez les résultats obtenus par l'électrophorèse. Que peut-on dire des résultats obtenus sur l'individu (I2) et l'individu (I3) en rapport aux questions 7 et 8 ?

Le séquençage des produits amplifiés montre que cette modification se situe entre la 35^{ème} et la 36^{ème} base du gène en prenant comme position 1 de référence le premier nucléotide du gène.

Question 11 : Repérez dans la séquence sens, qui est montrée, une phase ouverte de lecture (phase qui donnera une protéine). Quelle est la position du codon de départ (donner la position des 3 nucléotides du codon) et quelle est la position du codon stop (donner la position des 3 nucléotides du codon) en prenant comme position 1 de référence le premier nucléotide du gène ?

Question 12 : Connaissant le code génétique (voir tableau ci-dessous), expliquez l'impact de l'altération détectée sur la protéine.

		Deuxième lettre												
		U		C		A		G						
Première lettre	U	UUU	Phényl-alanine	UCU	sérine	UAU	tyrosine	UGU	cystéine	U	Troisième lettre			
		UUC		UCC			UAC		UGC			C		
		UUA	leucine	UCA			UAA	codons	UGA	codon stop		A		
		UUG				UCG		UAG	stop	UGG		tryptophane	G	
	C	CUU	leucine	CCU	proline	CAU	histidine	CGU	arginine	U				
		CUC				CCC		CAC				CGC		C
		CUA				CCA		CAA		glutamine		CGA		A
		CUG				CCG		CAG					CGG	
	A	AUU	isoleucine	ACU	thréonine	AAU	asparagine	AGU	sérine	U				
		AUC				ACC		AAC		AGC			C	
		AUA				ACA		AAA	lysine	AGA		arginine	A	
		AUG	méthionine	ACG			AAG			AGG				G
	G	GUU	valine	GCU	alanine	GAU	acide	GGU	glycine	U				
		GUC				GCC		GAC		aspartique		GGC		C
		GUA				GCA		GAA		acide		GGA		A
		GUG				GCG		GAG		glutamique		GGG		G

Partie 2: Production et purification de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (27 points).

Description de l'enzyme (17 pts)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine, appelée ECA, (EC 3.4.15.1), est une métalloprotéase de 170 kDa qui présente plusieurs sites de glycosylation. Elle catalyse la formation de l'angiotensine II par hydrolyse du décapeptide angiotensine I. Cette réaction fait partie du système rénine-angiotensine-aldostérone, schématisé ci-dessous.

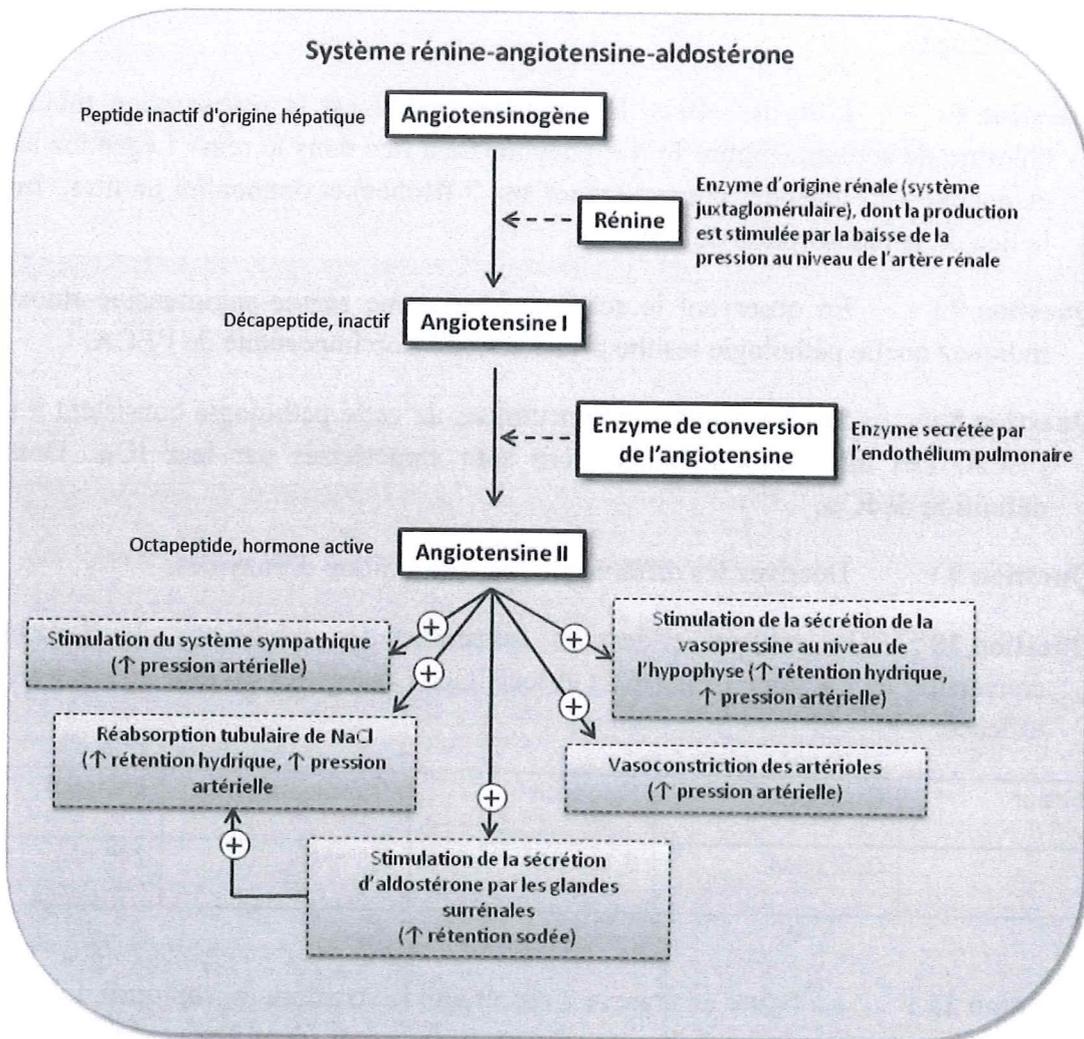


Figure 1 : Schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone ayant pour rôle de maintenir l'homéostasie hydrosodée.

Question 1 : À quoi sert le code EC d'une enzyme ? Plus particulièrement, que signifient le premier et le deuxième chiffres ?

Question 2 : Qu'est-ce qu'une glycosylation ? Quels types de glycosylation connaissez-vous ?

Question 3 : L'ECA somatique est une protéine de 1306 acides aminés. Sachant que la masse moyenne d'un acide aminé est 110 g/mol, estimez la taille attendue de la protéine en kDa. Vous justifierez votre résultat.

Question 4 : L'analyse par SDS-PAGE donne une taille apparente de 170 kDa. Comparez cette valeur avec la taille calculée précédemment. Qu'est ce qui, d'après les caractéristiques de l'enzyme, vous permet d'expliquer cette différence ?

Question 5 : L'ECA est une peptidyl-hydrolase. Représentez la réaction catalysée par l'enzyme sur la liaison peptidique. Vous noterez R1 et R2 les radicaux des résidus peptidiques impliqués dans la liaison et vous écrirez le reste des formules sous forme développée.

Question 6 : L'un des effets de l'angiotensine II est la réabsorption tubulaire du chlorure de sodium (Figure 1). Ce phénomène a lieu dans le rein. Légendez la figure en annexe 1 (7 légendes correspondant aux 7 flèches) et donnez-lui un titre. Indiquez le lieu de la réabsorption de NaCl.

Question 7 : En observant le schéma du système rénine-angiotensine-aldostérone, indiquez quelle pathologie résulte d'une activité trop importante de l'ECA.

Question 8 : Les traitements thérapeutiques de cette pathologie consistent à inhiber l'ECA. Les inhibiteurs thérapeutiques sont caractérisés par leur IC₅₀. Donnez la définition de IC₅₀.

Question 9 : Décrivez les différents types d'inhibition d'enzymes.

Question 10 : Le tableau ci-dessous rassemble des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) et leur IC₅₀. Classez-les du plus efficace au moins efficace.

Inhibiteur	Captopril	Lisinopril	Trandolapril	Enalapril
IC ₅₀	0,021 µM	0,140 µM	2,5 nM	240 nM

Question 11 : La figure en annexe 2 représente la structure du captopril, inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Entourez et identifiez sur la structure les 3 fonctions chimiques présentes. Parmi ces 3 fonctions, indiquez laquelle mime la liaison peptidique.

Purification (10 pts)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine peut être produite par des procédés biotechnologiques par des cellules animales. L'enzyme est alors sécrétée dans le milieu de culture. L'étude biochimique de cette enzyme nécessite sa purification. Deux méthodes

peuvent être envisagées ; la chromatographie d'exclusion stérique et la chromatographie d'affinité.

Question 12 : Donnez le principe de la séparation par chromatographie d'exclusion stérique

Question 13 : La principale protéine contaminante présente dans le milieu sera l'albumine sérique bovine issue du sérum, dont la taille est de 66 kDa. Donnez l'ordre d'éluion des deux protéines si vous effectuez une purification par chromatographie d'exclusion stérique. Vous justifierez votre réponse.

Question 14 : La chromatographie d'affinité est la méthode de purification la plus sélective ; elle permet en effet la purification par un facteur 1000. Décrivez le principe et les étapes de cette technique de purification grâce à un schéma.

Question 15 : Dans le cas de la purification de l'ECA par chromatographie d'affinité, l'éluion de l'enzyme est réalisée grâce à l'ajout d'un ligand de compétition dans le milieu. Sachant que l'IC₅₀ peut être relié à l'affinité, déterminez quelle espèce entre le captopril et le lisinopril sera fixé sur la phase stationnaire et lequel sera introduit dans la phase mobile. Justifiez votre réponse.

Question 16 : Comment est calculé le facteur de purification ?

Partie 3 : Exercice préparation de solutions (7 points)

Question 1 : Classez les récipients suivants par ordre croissant de précision : une burette graduée, un ballon, une pipette jaugée, un bécher et une éprouvette.

Question 2 : Indiquez quelle pipette vous allez utiliser pour prélever les volumes suivants : 2 μ L ; 0,9mL ; 4 μ L et 4 mL. Pipettes disponibles : P5000, P1000, P200 et P10.

Vous disposez des poudres et solutions mères suivantes :

D(+)-Glucose 180,1559 g/mol

CaCl₂ 147,02 g/mol

Tris-Hcl 1M pH6,5

EDTA 0,5 M pH8

SDS 20%

H₂O stérile

Question3 : Expliquez les étapes de la préparation d'une solution de 200 mL glucose 50 %

Question 4 : Expliquez les étapes de la préparation d'une solution de 500 mL de chlorure de calcium 0,1M.

Question 5 : Préparez 150mL de la solution suivante :

Tris HCl 50 mM ; EDTA 20mM ; SDS 0,1%

Partie 4 : Exercice de microbiologie sur *Bacillus subtilis* (6 points)

Une culture de nuit de la souche *Bs168* de la bactérie *Bacillus subtilis* auxotrophe pour le tryptophane est effectuée en milieu riche.

Question 1 : La bactérie est auxotrophe pour le tryptophane, expliquez ce que cela signifie.

Des dilutions en série de cette culture de nuit sont effectuées. 200µL des dilutions 10^{-4} à 10^{-7} ont été étalées sur milieu riche LB agar. Après une nuit d'incubation à 37 °C les colonies sont dénombrées.

Voici le tableau des résultats obtenus :

Facteur de dilution	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
200µL de culture	nd	360	40	4

Légende : nd : non déterminable

Question 2 : Calculez le titre cellulaire (en cellules/mL) de la culture de nuit. Détaillez votre réponse.

Question 3 : Définissez les notions de compétence et de transformation chez la bactérie.

Dans le but d'étudier les fonctions de la protéine YrnV, le gène *yrnV* codant pour cette protéine va être remplacé par une cassette de résistance à un antibiotique : l'érythromycine. Une transformation de la souche *Bs168* est effectuée.

Question 4 : Parmi ces propositions, sur quel milieu pouvez-vous sélectionner les transformants ? Justifiez votre réponse

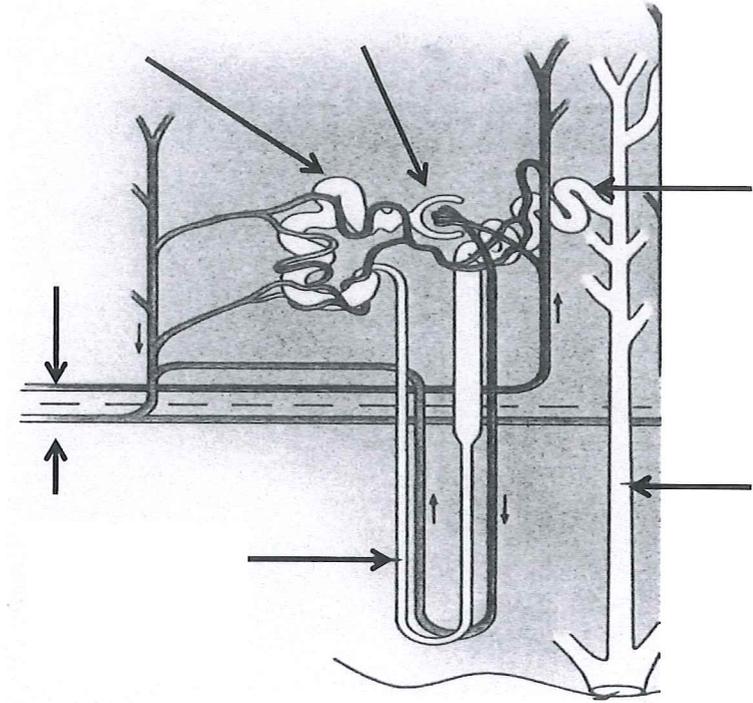
- a- Milieu riche
- b- Milieu riche + tryptophane
- c- Milieu minimum + érythromycine
- d- Milieu minimum + tryptophane
- e- Aucune de ces réponses

Au cours de cette expérience de transformation un témoin négatif contenant uniquement des bactéries sans ADN est réalisé.

Question 5 : À quoi sert ce témoin ?

Annexes à rendre avec la feuille de composition

Annexe 1



Annexe 2 : Structure du captopril

