



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

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

## **Rapport du jury**

**Concours: Agrégation externe**

**Section : Biochimie - génie biologique**

**Session 2024**

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

# SOMMAIRE

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

# INTRODUCTION

Le jury souhaite tout d'abord féliciter les lauréats de la session 2024. Par ailleurs, les épreuves écrites et orales du concours externe de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique ont pu se dérouler dans de bonnes conditions. Il est toutefois à noter l'interruption de nature exceptionnelle (en raison d'une alerte à la bombe) de l'épreuve pratique de chimie, et ce une heure après son début. Devant l'impossibilité de reprendre l'épreuve, cette dernière a été modifiée (suppression de l'ensemble des questions de connaissances qui jalonnaient l'épreuve) et poursuivie le lendemain matin en ne gardant que les parties expérimentales non traitées la veille, et leurs interprétations. Cette décision a permis à la fois de maintenir et de poursuivre cette épreuve pratique, tout en garantissant l'équité de traitement des candidats/candidates et l'évaluation de leurs compétences pratiques en chimie. Le jury a fortement apprécié la compréhension et l'adaptabilité de l'ensemble des candidats/candidates à cette situation inédite.

Les candidats admis ont fait preuve de connaissances de très haut niveau, mais aussi de compétences remarquables pour analyser, exploiter et mettre en œuvre des résultats, des données issues de la recherche, et ce dans l'ensemble des domaines de la biologie et des biotechnologies.

Ce concours, qui prépare à l'enseignement et à la recherche 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 et technologiques doivent être maîtrisés. En conséquence, le niveau d'exigence des épreuves est à l'image de l'exigence de la capacité d'adaptation à l'évolution très rapide des connaissances en biologie et en biotechnologies.

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

Au cours des épreuves pratiques, l'approche expérimentale fait partie des compétences majeures attendues dans ses différentes dimensions :

- calculs préliminaires en vue de la conception de protocoles,
- mise en œuvre expérimentale
- analyse critique des résultats expérimentaux obtenus.
- Interprétation de ces résultats au regard des hypothèses posées.

Enfin les qualités pédagogiques nécessaires pour présenter en vue de transmettre les nombreux concepts scientifiques et technologiques, expliquer l'environnement technologique du laboratoire et contextualiser la pertinence et le principe des méthodes mises en œuvre expérimentalement, sont également évaluées lors des épreuves écrites et orales.

Au cours de cette session, les candidats admissibles ont montré un engagement et une ténacité remarquables, et ce jusqu'à la fin des épreuves pratiques et orales.

Le jury encourage les candidats non admissibles ou non admis à se présenter à la session 2025.

L'attractivité de ce concours ne se dément pas au cours des années, avec un vivier d'étudiants normaliens et universitaires formés à l'ensemble des compétences visées par le concours qui permet de maintenir un recrutement de très haut niveau.

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

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Candidats inscrits	182
Candidats présents aux trois épreuves écrites d'admissibilité	57
Nombre de postes	11
Candidats admissibles	25
Candidats présents aux épreuves d'admission	23
Candidats proposés pour l'admission	11
Barre d'admissibilité (sur 20)	10,30
Barre d'admission (sur 20)	12,25

### ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE

Moyenne générale des candidats présents (sur 20)	09,56
Moyenne générale des candidats admissibles (sur 20)	13,01

#### COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	08,73
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,62
Note maximale (sur 20)	18,70

#### COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	10,30
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	14,04

Note maximale (sur 20)	18,50
------------------------	-------

### **COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	09,64
---	-------

Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	12,38
--	-------

Note maximale (sur 20)	16,30
------------------------	-------

## **ÉPREUVES D'ADMISSION**

Moyenne générale des candidats présents (sur 20)	11,37
--	-------

Moyenne générale des candidats admis (sur 20)	13,73
---	-------

### **TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	11,01
---	-------

Moyennes des candidats admis (sur 20)	13,16
---------------------------------------	-------

Note maximale (sur 20)	17,30
------------------------	-------

### **TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	11,34
---	-------

Moyennes des candidats admis (sur 20)	13,69
---------------------------------------	-------

Note maximale (sur 20)	16,80
------------------------	-------

### **TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	10,34
---	-------

Moyennes des candidats admis (sur 20)	12,04
---------------------------------------	-------

Note maximale (sur 20)	17,00
------------------------	-------

### **LEÇON**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	13,22
---	-------

Moyennes des candidats admis (sur 20)	15,55
---------------------------------------	-------

Note maximale (sur 20)	19,50
------------------------	-------

### **ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE**

Moyenne des candidats présents (sur 20)	10,46
---	-------

Moyennes des candidats admis (sur 20)	13,45
Note maximale (sur 20)	18,00

### **ENSEMBLE DU CONCOURS**

Moyenne générale des candidats présents admissibles (sur 20)	11,94
Moyenne générale des candidats admis (sur 20)	14,03

# ÉPREUVES ÉCRITES D'ADMISSIBILITÉ

## COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

### SUJET

#### Régulation des activités protéiques par les modifications post-traductionnelles

*La publication de la séquence quasi-complète du génome humain en 2001 a révélé que celui-ci codait beaucoup moins de protéines qu'initialement supposé par les scientifiques : environ 19.000 gènes codant des protéines selon une étude publiée en 2022 contre les 50.000- 100.000 attendus au démarrage du « human genome project » en 1989.*

*Comment alors expliquer qu'un organisme aussi complexe que le nôtre avec les innombrables fonctions biologiques qu'il est capable de générer s'appuie sur un panel de protéines aussi faible.*

*Ce questionnement trouve en partie sa réponse dans les modifications post-traductionnelles.*

Dans une première partie, vous décrierez **les grands types de modifications post-traductionnelles chez les eucaryotes supérieurs animaux, en précisant leurs natures, les lieux/compartiments cellulaires où elles sont effectuées et les acteurs responsables de ces modifications.**

Vous vous interrogerez ensuite sur les **événements moléculaires et structuraux** qu'induisent les modifications post-traductionnelles et comment il en résulte **un contrôle, une modulation des activités des protéines ciblées.**

Enfin, vous illustrerez vos propos quant au rôle des modifications post-traductionnelles chez les eucaryotes supérieurs au travers de deux exemples précis : la **dégradation protéasomale** et la **cascade de coagulation**.

La présentation de quelques approches biotechnologiques permettant de caractériser et/ou d'étudier ces modifications post-traductionnelles est également attendue.

## RAPPORT DU JURY DE BIOCHIMIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **08,73 / 20**
- Meilleure note : **18,70 / 20**
- Note la plus basse : **01,40 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,62 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **14,60 / 20**

Il est tout d'abord recommandé aux candidats d'annoncer un plan détaillé et de ne pas se contenter de quelques lignes faisant état de quelques idées jetées à l'emporte-pièce du style : « *nous définirons dans un premier temps les modifications post-traductionnelles, puis passerons en revue quelques-unes d'entre-elles en expliquant leur rôle chez les animaux, et terminerons par une conclusion et une ouverture* ». Un plan se doit d'être précis et permettre au correcteur de se faire une première opinion de ce que contiendra la composition et d'anticiper la construction et le déroulé des connaissances du candidat.

Dans une partie introductive, après avoir défini ce qu'est une modification post-traductionnelle (MPT), il eut été opportun de différencier une MPT d'une modification co-traductionnelle, très peu de candidats ont pointé cette différence. Bien qu'on puisse en partie considérer les modifications co-traductionnelles (modification des protéines en cours de traduction donc associées au ribosome), le jury aurait apprécié qu'il soit fait le distinguo avec les MPTs. Les MPTs se définissent comme l'ajout – ou la coupure protéolytique – d'un groupement chimique par une enzyme sur une protéine après que celle-ci ait achevé d'être synthétisée par la machinerie de traduction. On peut également définir une MPT comme toute modification d'une protéine entre le moment où elle est synthétisée et celui où elle est dégradée ; c'est ce qui lui permettra d'acquérir tout un ensemble de propriétés au cours de « sa vie » appelée protéostase ou protéostasie.

Bien évidemment établir une liste des MPTs ou grands groupes de MPTs les mieux connus était attendu: phosphorylations, glycosylations, méthylations, nitrosylations, lipidations (acylation, prénylation, cholestéroylation), ancres GPI, ubiquitination (à développer plus loin dans la copie), SUMOylation, et bien entendu la protéolyse... Il fallait à ce niveau de la composition identifier, structures à l'appui, les acides aminés modifiés, et autant que faire se peut, donner quelques structures de MPTs. Ceci permettait de faire la liaison avec la partie développement du sujet à proprement parlé, les MPTs chez les animaux supérieurs et de décrire la localisation subcellulaire (quel.s organite.s), et extracellulaire, notamment pour les glycosylations complexes

et certaines lipidations, où sont générées les MPTs. Les enzymes actrices des MPTs (kinases, glycosyltransférases, E3-ligases...) pouvaient être traitées à ce niveau de la copie sans oublier leur assistance par des groupements donneurs tels que l'ATP, les nucléotides sucres, l'acétyl-CoA, le S-adénosylméthionine (SAM)...

Une large partie de la composition devait être dévolue aux rôles des MPTs. Les exemples sont très divers, les candidats pouvaient en fonction de leurs préférences décrire la fonction des MPTs sur la localisation subcellulaire : changement de compartiment avec la notion de compartimentation, nombre de MPTs relocalisant les protéines dans un compartiment donné. C'est le cas par exemple de la rétention cytoplasmique de facteurs de transcription par phosphorylation ou le transport nucléaire de ces mêmes facteurs de transcription. Autres exemples qui pouvaient être développés : l'activité enzymatique (notion de zymogène), le contrôle de l'expression des gènes par les facteurs de transcription, la modulation de tout autre activité biologique comme par exemple les fonctions effectrices des immunoglobulines grâce à la glycosylation du Fc des anticorps vis-à-vis de leur fixation aux récepteurs Fc des cellules du système immunitaire eux-mêmes glycosylés.

Il était ensuite demandé aux candidats de traiter de deux exemples précis d'intervention des MPTs : la dégradation protéasomale et la cascade de coagulation.

Concernant le premier exemple, apporter des informations sur la structure générale du protéasome ainsi que sur son rôle dans l'homéostasie protéique était incontournable. Il fallait également différencier la mono-ubiquitination de la poly-ubiquitination et de la multi-ubiquitination, chacune jouant un rôle particulier dans la cellule. Enfin, l'ubiquitine, en qualité de MPT de type peptidique devait être décrite, ainsi que les enzymes du processus d'ubiquitination, à savoir E1, enzyme d'activation, E2, enzyme de conjugaison et E3, enzyme de ligation (E3-ligases). Un plus aurait été de citer le rôle des déubiquitinases (DUB) dans le cycle ubiquitination-déubiquitination et d'illustrer cette partie par quelques exemples de protéines impactées par l'ubiquitination (acteurs du cycle cellulaire, facteurs de transcription, enzymes...).

Pour la cascade de coagulation, il était bienvenu de présenter un schéma synthétique (série d'étapes du processus d'hémostase) de ce processus en mettant en exergue les principaux facteurs de coagulation (I, fibrinogène; II, prothrombine; III thromboplastine tissulaire...), de discuter succinctement des voies intrinsèque et extrinsèque, et d'embrayer sur les MPTs relatives au processus de coagulation : O-Glycosylation du facteur X,  $\gamma$ -carboxylation de la prothrombine (facteur II), VII, IX et X (Glu  $\rightarrow$  Gla) et bien évidemment du rôle de la vitamine K. En conclusion, plusieurs ouvertures étaient possibles : code des histones (innombrables MPTs concernant ces petites protéines clé régulant la topologie de la chromatine et par conséquent l'expression génique), connexion entre l'environnement (nutrition, stress, xénobiotiques...) et les MPTs, les MPTs en biotechnologies (glycosylations variables dans la modulation des fonctions des anticorps : immunogénicité, activités effectrices..., systèmes de production des protéines recombinantes et de leurs PTMs), outils d'études des MPTs...

Un certain nombre de points non négligeable étaient attribués à la qualité de la copie, en tenant compte de la qualité rédactionnelle (syntaxe, orthographe, accords...), qualité des schémas et propreté de la copie.

# COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

## SUJET

### Les virus, des parasites obligatoires.

Dans une première partie, vous décrirez la diversité structurale et organisationnelle des virus en expliquant en quoi ces caractéristiques en font des parasites obligatoires. Vous décrirez ensuite les mécanismes d'entrée des virus dans les cellules et les stratégies moléculaires et cellulaires qui permettent aux virus de se multiplier et d'entretenir cette capacité parasitaire, en prenant en compte leur évolution moléculaire. Enfin, vous illustrerez au travers d'exemples précis, l'intérêt des virus en biotechnologie appliquée au développement d'approches thérapeutiques ou prophylactiques pour l'organisme humain.

## RAPPORT DU JURY DE MICROBIOLOGIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,30 / 20**
- Meilleure note : **18,50 / 20**
- Note la plus basse : **01,00 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **14,04 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **15,20 / 20**

En suivant le plan proposé dans l'énoncé du sujet, il convenait, dans l'Introduction, de définir les virus, leurs caractéristiques, de rappeler dans quels types de cellules on les trouve, et comment on peut les observer. Un petit rappel historique était également attendu. Il convenait ensuite de définir le terme de « parasites obligatoires ».

Ensuite, la première partie devait décrire la diversité structurale et organisationnelle des virus : diversité de la capsid, diversité des acides nucléiques au sein de la capsid, virus « nus » *versus* enveloppés. La classification des virus (par exemple de Baltimore) permettait de comprendre comment l'ensemble de ces critères permet de classer les virus. Le sujet pouvait se limiter aux virus des cellules animales et des bactéries mais il convenait de l'énoncer clairement.

Dans une seconde partie, la présentation des stratégies moléculaires et cellulaires développées par les virus pour infecter et parasiter leur hôte permettait de comprendre comment les parasites co-évoluent avec leur hôte et insister sur ce point était un vrai plus. Le sujet impliquait de développer un exemple de cycle de réplication de virus à ARN des cellules animales, un exemple de cycle de réplication d'un virus à ADN des cellules animales et enfin, le cycle lysogénique *versus* lytique des bactériophages. Cependant, le sujet ne devait pas se limiter à ce simple descriptif de cycles de réplication. Il convenait de développer un paragraphe sur la co-évolution des parasites et de leur hôte, en insistant sur la pression de sélection exercée par le système immunitaire et les médicaments anti-viraux (glissements génétiques), sur le rôle des co-infections d'une même cellule par deux souches virales (exemple du virus de la grippe, émergence de nouveaux variants) et sur la sélection de résistances chez les bactéries infectées par les bactériophages. On pouvait s'interroger sur le degré de co-évolution des virus à ADN *versus* à ARN avec leur hôte : les virus à ADN qui dépendent des polymérases de la cellule hôte représentent-ils un degré d'adaptation à l'hôte plus important que les virus à ARN ? A mettre en parallèle avec le cas des rétrovirus (ex : VIH) dont le génome s'intègre dans celui de leur hôte pendant plusieurs années, en passant inaperçu : la co-évolution au long terme favoriserait la perte de virulence du virus et la co-existence des virus avec leurs hôtes.

Une troisième partie pouvait décrire quelques-unes des applications majeures des virus en biotechnologie à des fins thérapeutiques ou prophylactiques : à titre d'exemples, on pouvait mentionner l'utilisation des bactériophages et de la transduction bactérienne pour la détermination de l'ordre des gènes sur un chromosome bactérien, l'utilisation des bactériophages comme alternative aux antibiotiques (phagothérapie), l'utilisation des virus comme vecteurs pour la thérapie génique ou comme plateformes de clonages pour la production d'antigènes vaccinaux.

La conclusion devait brièvement récapituler les messages clés de la composition et ouvrir le sujet.

## COMMENTAIRES SUR L'ÉPREUVE

Les membres de jury ont apprécié la lecture de certaines copies structurées en paragraphes précédés d'un titre informatif, claires, sans erreurs de syntaxe et à l'écriture agréable. Ils souhaitent donc encore une fois, mettre l'accent sur l'importance du respect de la syntaxe, de la grammaire, de l'orthographe et de la ponctuation : un(e) enseignant(e) doit s'appliquer à lui/elle-même, la rigueur qui est demandée à ses étudiant(e)s. Les membres du jury ont

également apprécié les schémas variés, légendés et munis d'un titre qui venaient étayer les argumentations. L'utilisation de couleurs à la fois pour les schémas et les titres facilite toujours la lecture et est également appréciée. De nombreux candidats n'ont cependant pas pensé à mentionner dans leur texte, à quel moment ces schémas ou tableaux devaient être observés : il est impératif de mentionner dans le texte du devoir, AU MOMENT OU le correcteur doit regarder un schéma ou un tableau, le numéro du schéma ou de la figure. Sans cela, la figure ne peut pas être réellement considérée avec sa pertinence.

Remarques :

- les mots d'origine latine doivent être employés au singulier/pluriel selon les besoins de la phrase (UN pilus : singulier, DES pili : pluriel) ;
- la sonication des bactéries ne permet pas de transformer des bactéries, elle les tue !
- les plasmides font bien partie du génome bactérien ;
- l'ADN et l'ARN sont constitués de (ribo)nucléotides, pas seulement de bases nucléotidiques !
- la machine de réplication du génome chez les bactéries et chez certains virus possède bien l'activité d'exonucléase 3'-5' (de relecture)
- les virus ne sont pas tous pathogènes
- les génomes des virus d'eucaryotes et de procaryotes peuvent être constitués d'ADN ou d'ARN simple ou double brin
- les bactériophages ne sont pas tous caudés (ils ne présentent pas tous une queue)

# COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

## SUJET

### Les membranes, compartimentation et signalisation.

Dans le cadre du modèle animal, après avoir défini l'ultrastructure des membranes, vous explicitez les notions de compartimentation cellulaire ainsi que la dynamique des membranes pour aboutir aux mécanismes de communication cellulaire (signalisation-transduction du signal) que vous développerez. Vous traiterez un exemple de pathologie due à un défaut de signalisation. Les méthodes d'étude et techniques associées seront pertinentes pour étayer vos propos.

## RAPPORT DU JURY DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,64 / 20**
- Meilleure note : **16,30 / 20**
- Note la plus basse : **02,10 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **12,38 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,00 / 20**

La notion de compartimentation cellulaire indique l'existence de compartiments intracellulaires séparés les uns des autres par des membranes. Bien que séparés ces compartiments ne sont pas indépendants. La compartimentation est caractéristique des Eucaryotes, chez lesquels une dizaine de compartiments cellulaires différents aux fonctions variées existent.

Les premières observations cellulaires et celles plus récentes utilisant des microscopes à haute résolution (photonique ou électronique) ont permis de distinguer ces différents compartiments délimités par des membranes. Les compartiments entraînent une hétérogénéité intracellulaire qui ne peut se maintenir que si les limites des compartiments sont imperméables ou semi-perméables. Il faut donc un système de communication cellulaire entre les différents compartiments pour permettre une régulation normale et efficace de la cellule eucaryote, à défaut diverses pathologies peuvent survenir mettant en péril l'intégrité de la cellule et ainsi de l'organisme.

## **NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION**

Le sujet nécessitait de décrire de façon générale la composition et l'organisation d'une membrane en intégrant les notions de perméabilité. Les échanges entre compartiments selon les molécules et la dynamique des membranes devaient être traités pour dégager les notions de communication cellulaire et ainsi la transduction d'un signal avec les mécanismes de contrôle et de régulation de la signalisation cellulaire.

La biosynthèse, le trafic et le contrôle de la qualité des protéines devaient apparaître dans la composition permettant de faire le lien entre synthèse selon le compartiment, transduction de signal et effet au sein de la cellule ou à l'échelle de l'organisme, en prenant en compte les mécanismes de régulation par dégradation et autophagie par exemple, ce qui permettait de présenter une pathologie. Les exemples de pathologie devaient être pertinents par rapport au sujet et permettre d'illustrer la maîtrise par le candidat des éléments cellulaires des pathologies dans le cadre du sujet.

Une attention particulière était donnée sur le plan de la composition, les illustrations et schémas des connaissances présentées. Ainsi, des expériences faisant appel à la microscopie, à des expériences de photoblanchiment ou autres étaient attendues.

## **COMMENTAIRES SUR L'EPREUVE**

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 de composition, organisation et structures des membranes mais aussi les aspects moléculaires impliqués dans la transduction et signalisation. A chaque fois que cela est possible, une approche expérimentale, voire historique, des concepts et notions est préférable à leur exposition dogmatique. Cette approche a été valorisée dans le barème de notation.

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

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

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

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

# ÉPREUVES D'ADMISSION

## TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures Coefficient : 2

### SUJET

## AMÉLIORATION D'UNE FERULOYL ESTÉRASE PAR ÉDITION DU GÉNOME DE *BACILLUS SUBTILIS*

### Introduction

Les feruloyl estérases jouent un rôle important dans la conversion enzymatique de la biomasse lignocellulosique en hydrolysant les polysaccharides de la paroi cellulaire des plantes et la lignine, produisant notamment de l'acide férulique. L'acide férulique (acide 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-prop-2-énoïque) est un polyphénol qui possède de nombreuses fonctions physiologiques incluant des effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et antithrombotiques. Il est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Le but de ce travail est d'optimiser la réaction catalytique d'une feruloyl estérase de *Bacillus subtilis* grâce à une approche par CRISPR-Cas9. Cette technologie qui permet d'éditer un génome de manière précise s'est largement démocratisée ces dernières années. Cependant, l'utilisation de ce système sur une population cellulaire ne permet pas de modifier 100% des génomes, et le criblage pour la vérification de la présence de la mutation nécessite l'extraction des génomes et un séquençage qui sont relativement longs et coûteux. Pour pallier à ces inconvénients une nouvelle stratégie de criblage appelée PIM-RFLP (*PCR-Induced Mutagenesis-Restriction Fragment Length Polymorphism*) a récemment été mise au point. Cette stratégie plus rapide et moins onéreuse repose sur la réalisation d'une PCR avec des amorces spécifiques suivie d'une digestion enzymatique.

Durant ce TP vous devrez dans un premier temps quantifier par PCR quantitative l'activité enzymatique d'une polymérase produite au laboratoire. Cette polymérase sera ensuite utilisée pour réaliser une PIM-RFLP afin de déterminer l'efficacité d'une mutagenèse dirigée par CRISPR-Cas9 de la feruloyl estérase de *Bacillus subtilis*. Vous déterminerez ensuite les paramètres cinétiques des enzymes mutées ainsi obtenues.

## Consignes Générales

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.

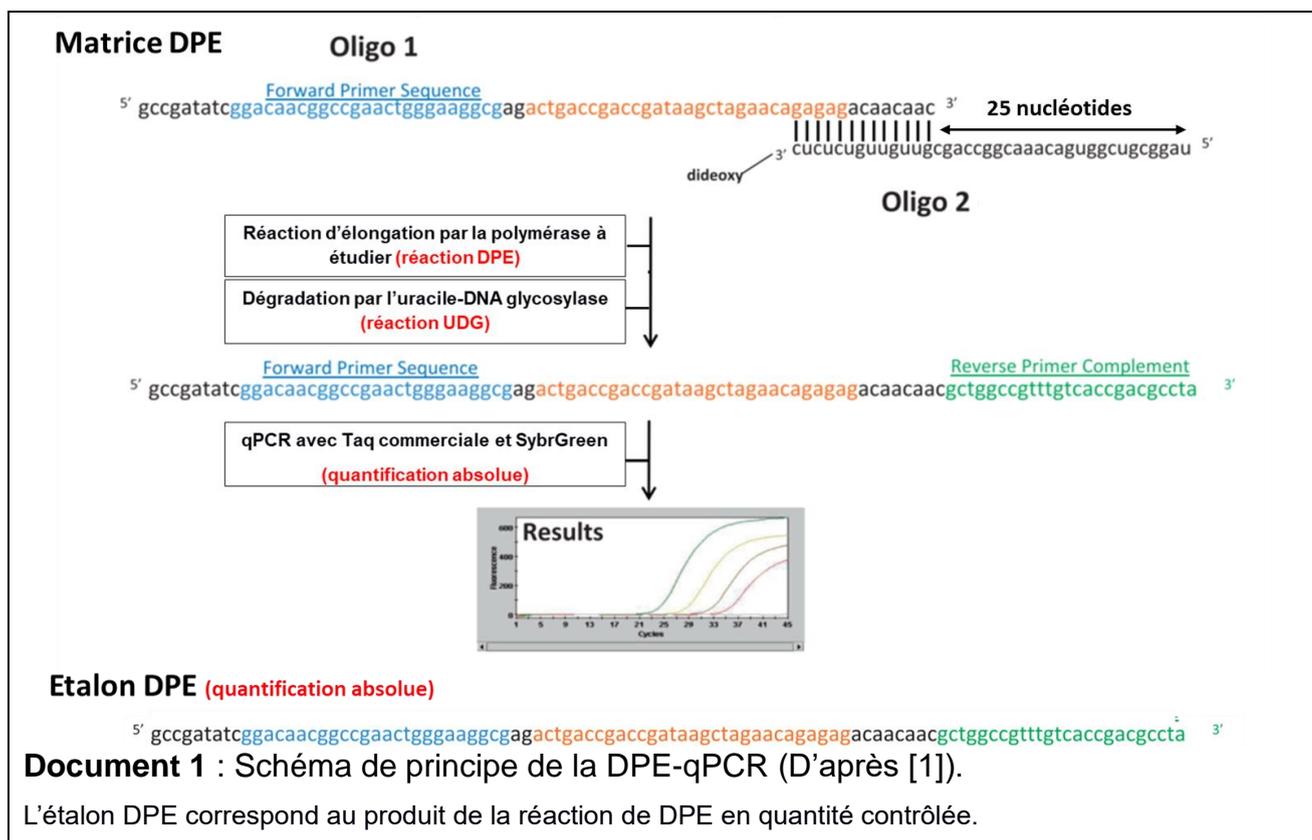
## **PARTIE 1 : Quantification de l'activité enzymatique d'une polymérase produite au laboratoire**

La PIM-RFLP pour le criblage des mutations réalisées par CRIPSR-Cas9 repose sur une réaction de PCR. Or, selon l'efficacité de la mutagenèse, il peut être nécessaire de cribler un grand nombre de cellules pour identifier un mutant d'intérêt et donc d'utiliser une grande quantité de Taq polymérase. Afin de réduire les coûts, il est alors possible de produire et de purifier au laboratoire une Taq polymérase recombinante qui sera utilisée pour les réactions de PCR de la PIM-RFLP.

Cependant, avant toute utilisation l'efficacité de la polymérase ainsi produite et purifiée doit être vérifiée en déterminant son activité enzymatique. Une méthode possible pour quantifier l'activité de la Taq polymérase est la DPE-qPCR (DPE : DNA Polymerase Extension). Il s'agit d'une mesure de l'activité d'élongation d'une ADN polymérase suivie d'une PCR en temps réelle permettant une quantification absolue de son activité. Le principe de la méthode est présenté dans le document 1.

La DPE-qPCR se déroule en trois étapes principales qui seront mise en œuvre dans les parties 1.1, 1.2 et 1.3 :

- Elongation d'un ADN matrice par l'ADN polymérase étudiée : réaction DPE.
- Dégradation de l'ADN matrice par l'uracyle DNA glycosylase : réaction UDG.
- Quantification par qPCR des fragments produits par l'ADN polymérase étudiée.



### Partie 1.1 : élongation de l'ADN par la Taq polymérase (réaction DPE)

La Fiche Technique 1 présente le protocole à mettre en œuvre pour l'élongation de l'ADN par la Taq polymérase produite au laboratoire (Taq étudiée) que l'on souhaite valider pour son utilisation en PIM-RFLP.

**Q1.** Indiquer à l'aide d'un tableau les volumes des réactifs nécessaires à la réalisation d'un milieu réactionnel de DPE.

### Partie 1.2 : dégradation par l'uracile ADN glycosylase (réaction UDG)

La Fiche Technique 2 présente le protocole de digestion à mettre en œuvre.

**Q2.** Préciser l'objectif et l'intérêt de cette étape.

**Q3.** Indiquer les volumes des réactifs utilisés pour une réaction.

### Partie 1.3 : Quantification par qPCR des fragments produits par la Taq polymérase

La Fiche Technique 3 présente le protocole de quantification par qPCR des produits DPE élongués par la Taq polymérase étudiée à mettre en œuvre.

**Q4.** Expliquer le principe de la quantification absolue en qPCR.

**Q5.** Montrer que le premier tube de la gamme contient  $10^9$  copies d'ADN Etalon DPE (donnée : nombre d'Avogadro  $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ ).

**Q6.** Tracer la courbe  $Ct = f(\log(\text{nombre initial de copies d'ADN Etalon DPE}))$ .

**Q7.** Déterminer le nombre initial de copies de produits DPE dans le milieu réactionnel de qPCR des échantillons contenant la Taq réf et la Taq étudiée.

Q8. Calculer le nombre de copies produites par les polymérase (Taq réf et Taq étudiée) lors de l'étape d'élongation.

Q9. En déduire le nombre de nucléotides incorporés lors de l'étape d'élongation pour chacune des polymérase (Taq réf et Taq étudiée).

Q10. Sachant qu'une unité d'activité de la Taq polymérase est définie comme la quantité nécessaire pour catalyser l'incorporation de 0,1 pmoles de dNTP dans les conditions expérimentales de la Fiche Technique 1, déterminer la concentration d'activité catalytique de chacune des polymérase (Taq réf et Taq étudiée).

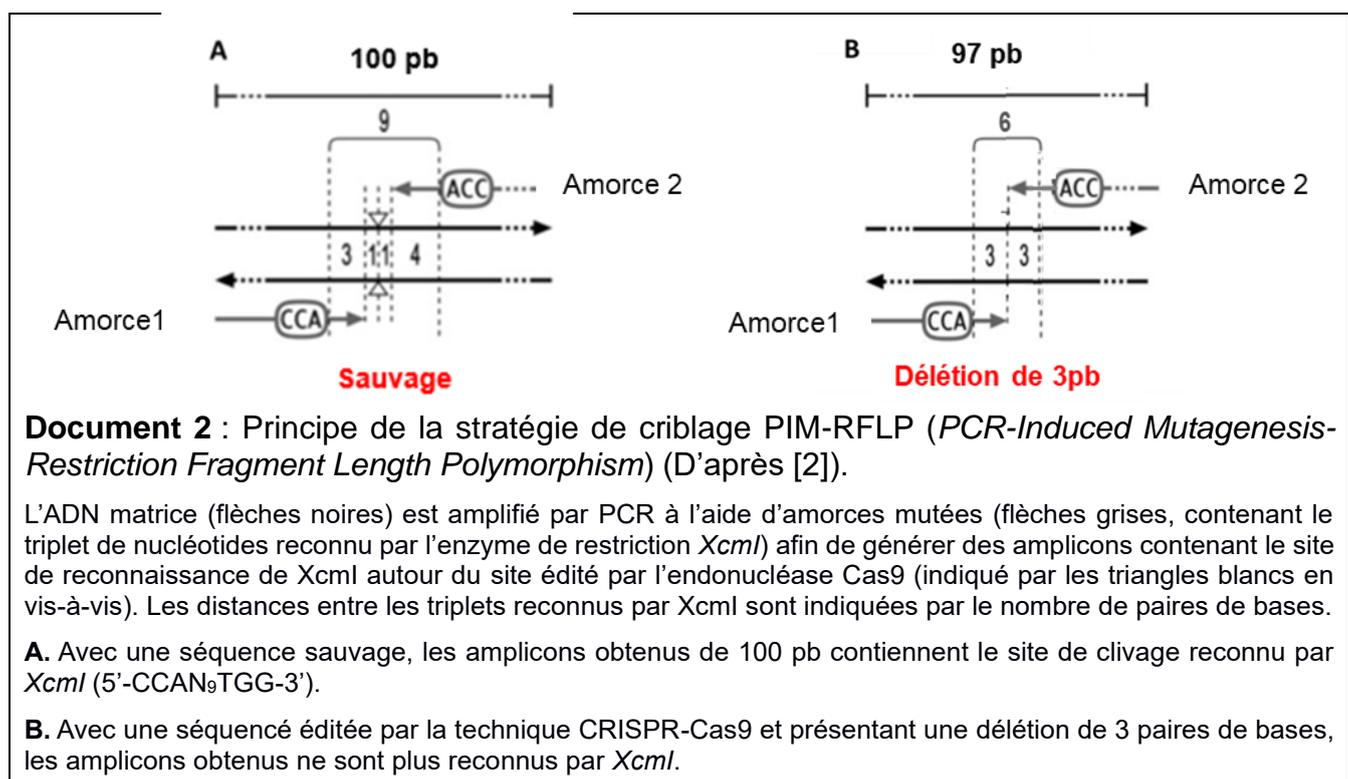
Q11. Comparer la valeur de la concentration d'activité catalytique de la Taq réf obtenue à celle annoncée.

Q12. Conclure sur la possibilité d'utiliser la Taq étudiée produite au laboratoire pour la mise en œuvre d'une PIM-RFLP.

## PARTIE 2 : Analyse de l'édition génomique par PIM-RFLP

L'ADN polymérase recombinante validée dans la partie 1 est utilisée pour déterminer l'efficacité d'une mutagenèse dirigée réalisée par la technique CRISPR-Cas9. Des cellules de *Bacillus subtilis* ont été transformées par un plasmide permettant la modification de la séquence codante pour la feruloyl estérase de *Bacillus subtilis* et ainsi améliorer son efficacité catalytique.

Après édition des génomes, les chromosomes bactériens sont extraits et purifiés. A partir de cet ADN, une PIM-RFLP est réalisée à l'aide de l'ADN polymérase recombinante. Le principe de cette méthode est présenté dans le document 2.



La PCR de la PIM-RFLP a été réalisée sur 3 échantillons : ADN extrait d'une culture de *Bacillus subtilis* non éditée et d'une culture de *Bacillus subtilis* dont le génome a été édité une ou deux fois par la technique CRISPR-Cas9. Les amplicons obtenus ont été purifiés et sont fournis : amplicons non édités, amplicons édités 1, amplicons édités 2.

La Fiche Technique 4 présente le protocole de restriction à mettre en œuvre.

**Q13. Indiquer les volumes des réactifs nécessaires à la réalisation d'un milieu réactionnel pour la digestion par *Xcml*.**

**Q14. Schématiser les résultats théoriques qu'il est possible d'obtenir en fonction de l'efficacité de l'édition.**

**Q15. Analyser les résultats obtenus et conclure.**

## **PARTIE 3 : Caractérisation des feruloyl estérases**

Afin d'étudier l'activité enzymatique des feruloyl estérases des différentes souches de *Bacillus subtilis* dont le génome a été édité ou non, une extraction de l'ensemble des protéines cytoplasmiques a été réalisée. Les échantillons ainsi obtenus sont fournis : enzyme non éditée, enzyme éditée 1 et enzyme éditée 2.

### **Partie 3.1 : Détermination de l'activité enzymatique**

La Fiche Technique 5 présente le protocole à mettre en œuvre.

**Q16. A partir des résultats expérimentaux obtenus, déterminer l'activité enzymatique des trois feruloyl estérases étudiées.**

**Q17. Déterminer et comparer les activités spécifiques des trois feruloyl estérases étudiées.**

**Q18. Conclure.**

### **Partie 3.2 : Détermination des paramètres cinétiques $K_M$ et $v_{i,max}$**

La Fiche Technique 6 présente le protocole de détermination des paramètres cinétiques  $K_M$  et  $v_{i,max}$  à mettre en œuvre.

**Q19. Justifier le choix de l'enzyme utilisée et le  $\Delta t$  choisi.**

**Q20. Discuter et justifier la composition du témoin de compensation de réactifs.**

**Q21. Etablir un tableau de mesures avec les concentrations du substrat en mmol/L et les vitesses initiales exprimées en  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ .**

**Q22. A l'aide d'une méthode judicieusement choisie, déterminer  $K_M$  et  $v_{i,max}$ .**

**Q23. A partir de la valeur de  $K_M$  obtenue, justifier les différents volumes de substrats choisis.**

**Q24. Comparer les valeurs de  $K_M$  et  $v_{i,max}$  de l'enzyme sauvage et de l'enzyme éditée et conclure.**

## **PARTIE 4 : Bilan de l'étude**

**Q25. Rédiger une courte synthèse de l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus au regard des objectifs de l'étude.**

### **Références :**

[1] Zweitzig, D *et al.*, *Characterization of a novel DNA polymerase activity assay enabling sensitive, quantitative and universal detection of viable microbes*, Nucleic Acids Research (Vol 40, 2012).

[2] Angelopoulou, L *et al.*, *A PCR-Induced Mutagenesis-Restriction Fragment Length Polymorphism Method for the Detection of CRISPR-Induced*, The CRISPR Journal (2023).

# DOSSIER TECHNIQUE

Le dossier technique est distribué à côté du sujet.

## ANNEXE 1

## DONNÉES DE SÉCURITÉ

### Paranitrophénol > 99%



#### Attention

**H301** Toxique en cas d'ingestion.

**H312+H332** Nocif en cas de contact cutané ou d'inhalation.

**H373** Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.

### Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>



#### Attention

**H319** Provoque une sévère irritation des yeux.

## FICHE TECHNIQUE 1

## ELONGATION DE L'ADN PAR LA TAQ POLYMERASE

### RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Matrice DPE</b>	Matrice d'hybridation des oligonucléotides 1 et 2 à 5X (substrat de la réaction DPE : <i>DNA Polymerase Extension</i> ).	25 µL en microtube
<b>dNTP</b>	Mélange des 4 dNTP à 2,5 mM chacun	15 µL en microtube
<b>Tampon DPE</b>	Tampon 10X de la réaction DPE ( <i>DNA Polymerase Extension</i> )	20 µL en microtube
<b>Taq réf</b>	ADN Taq polymérase commerciale à 1U/µL	15 µL en microtube
<b>Taq étudiée</b>	ADN Taq polymérase recombinante produite et extraite pour la réalisation de la PIM-RFLP	15 µL en microtube
<b>Eau BM</b>	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	1 mL en microtube

- Microtubes de 1,5 mL stériles
- Vortex
- Microcentrifugeuse de paillasse
- Bain à sec à 65°C avec thermomètre

### MODE OPÉRATOIRE

Composition du milieu réactionnel pour 1 tube :

Réactifs	Composition du milieu réactionnel
Matrice DPE 5X	Matrice DPE 1X
dNTP à 2,5 mM	dNTP à 0,2 mM
Tampon DPE 10X	Tampon DPE 1X
Taq polymérase	2 µL
	Volume final= 25 µL

1. Réaliser un tube pour tester l'activité enzymatique de l'ADN Taq polymérase recombinante (Taq étudiée) et un autre pour tester l'activité enzymatique de l'ADN Taq polymérase du commerce (Taq réf).
2. Réaliser un témoin sans Taq polymérase.
3. Homogénéiser et incuber 20 min à 65°C.

Les produits de réactions obtenus sont nommés : **Produit DPE Taq étudiée**, **Produit DPE Taq réf**, **Produit DPE sans amplification**. Ils seront utilisés pour la réalisation de la Fiche Technique 2.

## FICHE TECHNIQUE 2

## DEGRADATION PAR L'URACILE DNA GLYCOSYLASE

### RÉACTIFS ET MATÉRIEL

<b>UDG</b>	Enzyme Uracile DNA Glycosylase à 1U/ $\mu$ L	5 $\mu$ L en microtube
<b>Tampon UDG</b>	Tampon 10X de l'enzyme UDG	10 $\mu$ L en microtube
<b>Eau BM</b>	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	1 mL en microtube
<b>Produit DPE Taq étudiée</b>	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE à partir de la Taq polymérase recombinante produite et extraite pour la réalisation de la PIM-RFLP (obtenu dans la Fiche Technique 1)	25 $\mu$ L en microtube
<b>Produit DPE Taq réf</b>	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE à partir de la Taq polymérase du commerce (obtenu dans la Fiche Technique 1)	25 $\mu$ L en microtube
<b>Produit DPE sans amplification</b>	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE sans amplification (obtenu dans la Fiche Technique 1)	25 $\mu$ L en microtube

- Microtubes de 1,5 mL stériles
- Vortex
- Microcentrifugeuse de paillasse
- Un bain à sec à 50°C

### MODE OPÉRATOIRE

1. Hydrolyser par une unité de l'enzyme UDG, 2  $\mu$ L de chaque produit obtenu après la réaction DPE (Fiche Technique 1). Le volume final de la réaction est de 20  $\mu$ L.
2. Homogénéiser et incuber 20 min à 50°C.

Les produits de réactions obtenus sont nommés : *Produit UDG Taq étudiée*, *Produit UDG Taq réf* et *Produit UDG sans amplification*. Ils seront utilisés pour la réalisation de la Fiche Technique 3.

**FICHE  
TECHNIQUE 3****QUANTIFICATION PAR QPCR DES  
FRAGMENTS PRODUITS PAR LA TAQ  
POLYMERASE****REACTIFS ET MATERIEL**

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Mix Amorce	Amorces sens et anti-sens en mélange équimolaire	75 µL en microtube
Mix SYBR	2X, contient SYBR® Green, ADN polymérase III, dNTP, Tampon	150 µL en microtube
Etalon DPE	Matrice complète pour quantification de la réaction de DPE à 0,33 nmol/L	20 µL en microtube
Paraffine	Huile de paraffine	Flacon à demander
Produit UDG Taq étudiée	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE et UDG avec la Taq polymérase recombinante produite et extraite pour la réalisation de la PIM-RFLP (obtenu dans la Fiche Technique 2)	20 µL en microtube
Produit UDG Taq réf	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE et UDG avec la Taq polymérase du commerce (obtenu dans la Fiche Technique 2)	20 µL en microtube
Produit UDG sans amplification	Produit obtenu suite à la réalisation de la réaction DPE et UDG sans amplification (obtenu dans la Fiche Technique 2)	20 µL en microtube
Eau BM	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	1 mL en microtube

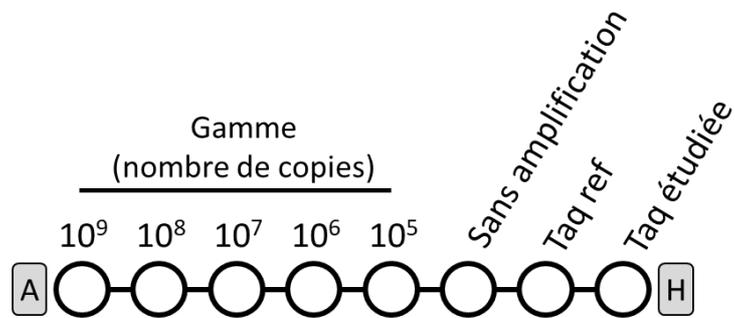
- Thermocycleur programmé
- Microtubes de 1,5 mL stériles
- Microtubes de 0,2 mL stériles
- Barrette 8 puits de 0,2 mL stérile

**MODE OPÉRATOIRE**

Composition du milieu réactionnel pour 1 tube :

Réactifs	Volume (µL)
Mix Amorce	7,5
Mix SYBR 2X	12,5
Échantillon à tester ou Matrice étalon de la gamme	5
Volume final	25

1. Réaliser une gamme de dilution de l'Étalon DPE en 5 points de raison 10, à partir de  $10^9$  copies.
2. Préparer un master mix sans ADN pour l'ensemble des tubes, en utilisant le tableau ci-dessus.
3. Remplir la barrette en respectant le plan de dépôt suivant :



4. Mettre une goutte de paraffine dans chaque puits.
5. Remettre la barrette aux examinateurs pour dépôt dans l'appareil de qPCR.

**FICHE  
TECHNIQUE 4****ANALYSE DE L'ÉDITION GENOMIQUE PAR  
PIM-RFLP****RÉACTIFS ET MATÉRIEL**

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Amplicons non édités</b>	Produit de PCR obtenu par amplification de l'ADN non édité issus de cellules non traitées par CRISPR	20 µL en microtubes
<b>Amplicons édités 1</b>	Produit de PCR obtenu par amplification de l'ADN édité issus de cellules traitées une fois par CRISPR	20 µL en microtubes
<b>Amplicons édités 2</b>	Produit de PCR obtenu par amplification de l'ADN édité issus de cellules traitées deux fois par CRISPR	20 µL en microtubes
<b>Xcml</b>	Enzyme de restriction à 2 U/µL hydrolysant spécifiquement la séquence 5'-CCAN <sub>9</sub> TGG-3'	5 µL en microtubes
<b>Tampon Xcml</b>	Tampon 10X de l'enzyme Xcml + tampon de charge	10 µL en microtubes
<b>Eau BM</b>	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	1 mL en microtubes
<b>M 20 pb</b>	Marqueur de taille 20 pb	15 µL en microtubes
<b>Agarose</b>	Agarose haute résolution en poudre	Paillasse cuve électrophorèse
<b>GelRed</b>	Solution à 10000X pour la mise en évidence optimale de 20 à 100 ng d'ADN.	A demander
<b>TAE</b>	Tris Acétate EDTA 1X	1 flacon de 2 L collectif par laboratoire
<b>LB</b>	Loading buffer 6X	50 µL en microtubes

- 1 cuve d'électrophorèse complète, avec portoir et peigne.
- 1 générateur
- 1 bain à sec à 37°C
- Imageur UV

- 1 flacon conique avec bouchon en mousse
- 1 éprouvette graduée de 100 mL
- Microtubes de 1,5 mL stériles
- Mini-centrifugeuse de paillasse
- Rouleau de scotch de peinture (paillasse électrophorèse)
- Fond noir (paillasse électrophorèse)
- Four micro-onde (dans le sas)
- Plan de dépôt papier

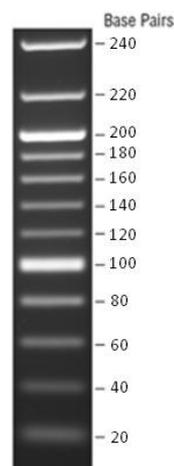
## MODE OPÉRATOIRE

---

1. Réaliser les milieux réactionnels de digestion dans des microtubes de 1,5 mL stériles. On souhaite digérer 10  $\mu$ L d'amplicons par 2 U d'enzyme de restriction dans un volume final de 20  $\mu$ L.
2. Incuber à 37°C en bain marie à sec pendant 20 min.
3. Préparer le portoir de coulage du gel en fermant les extrémités ouvertes à l'aide de scotch de peinture.
4. Préparer 35 mL de gel d'agarose haute résolution à 2% en TAE 1X (m/V) dans un flacon conique avec bouchon en mousse (la pesée de l'agarose peut être réalisée directement dans le flacon). **Appeler l'examineur pour la pesée.**
5. Faire fondre la préparation au micro-onde (trois ébullitions).
6. Après refroidissement (mais avant solidification) **appeler l'examineur** : ajouter le volume nécessaire de GelRed, homogénéiser puis couler dans le portoir de gel. Placer un peigne.
7. Après solidification du gel retirer les bandes de scotch, déposer le gel et son portoir dans la cuve d'électrophorèse, retirer délicatement le peigne, et remplir les réservoirs de la cuve avec du TAE 1X jusqu'à ce que le niveau de liquide recouvre le gel de quelques millimètres.
8. Compléter le plan de dépôt (à rendre avec la copie) et déposer 15  $\mu$ L des échantillons préparés **et** 10  $\mu$ L de marqueur(s) de taille **en présence de l'examineur.**
9. Brancher la cuve au générateur et démarrer la migration à 100 V.
10. A la fin de la migration, **appeler l'examineur pour prendre une photographie** à l'aide de l'imageur UV.

### Données :

Marqueur de taille 20 pb (M 20 pb) :



**FICHE  
TECHNIQUE 5****DETERMINATION DE L'ACTIVITE  
ENZYMATIQUE****RÉACTIFS ET MATÉRIEL**

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Enzyme non éditée	Enzyme extraite des cellules dont le génome n'a pas été édité par CRISPR à 0,97 g/L	3 mL en tube à hémolyse
Enzyme éditée 1	Enzyme extraite des cellules dont le génome a été édité une fois par CRISPR à 0,91 g/L	3 mL en tube à hémolyse
Enzyme éditée 2	Enzyme extraite des cellules dont le génome a été édité deux fois par CRISPR 0,94 g/L	3 mL en tube à hémolyse
Tampon enzyme	Tampon phosphate de sodium pH 7; 50 mmol/L; + Mg <sup>2+</sup> à 1,5 mmol/L + βME à 15 mmol/L	35 mL en flacon
Substrat	4-nitrophenyl-3-O-(E)-feruloyl-alpha-D-xylopyranoside : 20 mmol/L en tampon phosphate	3 mL en tube à hémolyse

- Chronomètre
- Spectrophotomètre thermostaté à 30°C
- Bain thermostaté à 30°C avec thermomètre
- Microcuvettes visibles
- Parafilm

**MODE OPÉRATOIRE**

Pour chacun des échantillons, une cinétique continue sera réalisée à 30°C.

1. Introduire dans une microcuvette visible :
  - 0,2 mL de substrat pré-incubé à 30°C
  - 1,2 mL de tampon enzyme pré-incubé à 30°C
2. Introduire 100 µL de l'enzyme pour déclencher la réaction.
3. Mesurer les absorbances à 420 nm toutes les 10s et pendant 2 min dans le spectrophotomètre thermostaté à 30°C.
4. Relever la pente de la courbe donnée en min<sup>-1</sup> par le spectrophotomètre.

**Appeler l'examineur pour une des cinétiques**

**Données :**

Le substrat utilisé est le 4-nitrophenyl 3-O-(E)-feruloyl-alpha-D-xylopyranoside. L'hydrolyse de ce substrat par les feruloyl estérases aboutit à la production d'un paranitrophénol qui absorbe à 420 nm. L'hydrolyse non enzymatique de ce substrat est négligeable dans les conditions expérimentales des Fiches Techniques 5 et 6.

Le tableau ci-dessous, indique les coefficients d'extinction molaire de ce paranitrophénol à différents pH :

pH	5	7	9	>11
Coefficient d'extinction molaire du produit (mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> .L)	100	410	3900	4200

## FICHE TECHNIQUE 6

## DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES DES ENZYMES EDITEES

### RÉACTIFS ET MATÉRIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Enzyme éditée	Le candidat choisira de façon judicieuse entre l'enzyme éditée 1 et l'enzyme éditée 2 présentées dans le Fiche Technique 5	3 mL en tube à hémolyse
Tampon enzyme	Tampon phosphate de sodium pH 7; 50 mmol/L; + Mg <sup>2+</sup> à 1,5 mmol/L + βME à 15 mmol/L	35 mL en flacon
Substrat	4-nitrophenyl-3-O-(E)-feruloyl-alpha-D-xylopyranoside : 20 mmol/L en tampon phosphate	3 mL en tube à hémolyse
Solution d'arrêt	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> à 1 mol.L <sup>-1</sup> , EDTA 4 mmol.L <sup>-1</sup> , pH > 11	25 mL en flacon

- Bain thermostaté à 30°C avec thermomètre
- Chronomètre
- Spectrophotomètre
- Microcuvettes visibles
- Tubes à hémolyse

### MODE OPÉRATOIRE

1. Introduire dans un tube à hémolyse le mélange suivant :

- x mL de substrat
- qsp 1,4 mL de tampon

Gamme de concentration en substrat :

x mL de substrat à 20 mmol/L avec x correspondant au volume pour une gamme de dilution en 10 points : **0 µL, 1,5 µL, 5 µL, 10 µL, 25 µL, 50 µL, 75 µL, 100 µL, 125 µL, 150 µL.**

2. Homogénéiser au vortex.
3. Pré-incuber à 30°C pendant 5 min.

4. Ajouter 0,1 mL d'enzyme judicieusement choisie.
5. Arrêter la réaction avec 1 mL de solution d'arrêt après une durée n'excédant pas 4 minutes.
6. Relever l'absorbance à 420 nm contre un témoin de compensation des réactifs judicieusement choisi.

**Appeler l'examineur pour une des cinétiques.**

**Données :**

1) Le substrat utilisé est le 4-nitrophenyl 3-O-(E)-feruloyl-alpha-D-xylopyranoside. L'hydrolyse de ce substrat par les feruloyl estérases aboutit à la production la production d'un paranitrophénol qui absorbe à 420 nm. L'hydrolyse non enzymatique de ce substrat est négligeable dans les conditions expérimentales des Fiches Techniques 5 et 6.

Le tableau ci-dessous, indique les coefficients d'extinction molaire de ce paranitrophénol à différents pH :

pH	5	7	9	>11
Coefficient d'extinction molaire du produit (mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> .L)	100	410	3900	4200

2) Pour l'enzyme judicieusement choisie, dans les conditions expérimentales de la Fiche Technique 6, pour une concentration en substrat de 2.10<sup>-2</sup> mmol.L<sup>-1</sup>, la durée de la période stationnaire est supérieure à 5 min.

3) Pour la feruloyl estérase non éditée :

$$K_M = 0,92 \text{ mmol.L}^{-1}$$

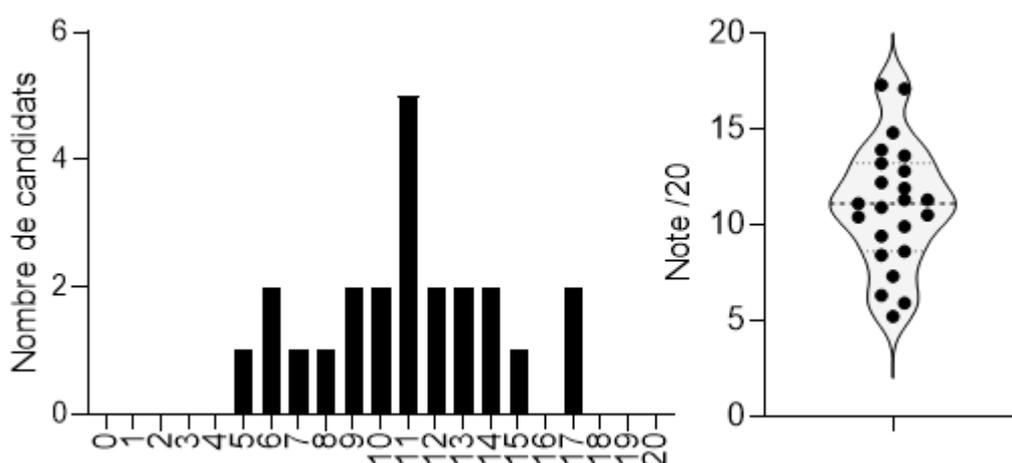
$$V_{i,\max} = 0,012 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$$

(Valeurs obtenues dans les mêmes conditions opératoires que celles de la Fiche Technique 6)

## RAPPORT DU JURY DE TP DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- 
- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,01 / 20**
- Meilleure note : **17,30 / 20**
- Note la plus basse : **05,20 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,16 / 20**



Répartition des notes obtenues au TP de biochimie-physiologie 2024

## COMMENTAIRES GÉNÉRAUX SUR L'ÉPREUVE

Le sujet portait sur l'amélioration d'une féruloylestérase par édition du génome de *Bacillus subtilis*. Il comprenait une étude préalable de l'activité d'une Taq polymérase recombinante produite au laboratoire afin de vérifier l'efficacité d'édition sur une population bactérienne par PIM-RFLP. Puis une caractérisation enzymatique des féruloylestérases produites par les bactéries.

Le sujet proposait des manipulations classiques de biologie moléculaire et d'enzymologie. La majorité des candidats a réalisé les manipulations des parties 1 et 2 (biologie moléculaire). La partie 3 (enzymologie) a été partiellement abordée. De façon à traiter le sujet proposé dans de bonnes conditions, il était important comme d'accoutumé d'organiser le temps de manipulation de manière optimale, en prenant en compte notamment la durée des manipulations individuelles ainsi que des temps morts des différents protocoles.

Par ailleurs, le matériel nécessaire pour réaliser l'ensemble des manipulations du sujet est conséquent et nécessitent de s'organiser à la paillasse. Une majorité des candidats a réussi à organiser un espace de travail adapté permettant de réaliser les manipulations dans de bonnes conditions spatiales. La liste de matériel à utiliser pour les manipulations est indiquée dans chaque fiche technique, permettant ainsi de s'organiser au mieux. Le jury regrette cependant que quelques candidats ne maîtrisent pas l'usage du matériel de base d'un laboratoire de biotechnologies.

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. Les candidats devaient porter des lunettes de protection lors de l'arrêt de la réaction enzymatique. Celles-ci ont trop souvent été oubliées. De plus, les expériences réalisées nécessitaient souvent le port de gants, pour diverses raisons et donc à bon escient : protection des échantillons, ou protection du candidat ou enfin limitation des contaminations. Il est regrettable que certains candidats portent des gants du début à la fin de l'épreuve, notamment pour rédiger, utiliser les appareils de mesure, manipuler le clavier des ordinateurs ou se toucher le visage montrant un manque de culture de la prévention des risques au laboratoire. De plus, le jury rappelle que le passage aux sanitaires nécessite d'ôter la blouse.

Par ailleurs, tous les résultats bruts (photos de gels, résultats de qPCR, ...) doivent être référencés, et correctement annotés (titre et légendes), soit directement dans la copie, soit dans les fichiers informatiques du dossier candidat. Notons qu'un titre du type « Ct en fonction de la concentration en ADN » n'apporte aucune information autre que celles déjà indiquées sur les axes et ne convient donc pas. Un titre indiquant le contexte ou la finalité de la manipulation et donc apportant une plus-value est attendu.

L'emploi d'un fichier informatique doit être signalée dans la copie.

Pour la majorité des candidats, l'exploitation des résultats est trop parcellaire. La rigueur dans l'écriture des calculs est indispensable pour le métier d'enseignant en biotechnologies mais aussi pour établir à l'aide des équations mathématiques une suite de calculs sans erreur. La présentation des résultats de mesure et des calculs nécessite de ne jamais omettre les unités. Pour effectuer ces calculs, les équations aux grandeurs doivent être exposées dans la copie, il est ensuite possible de présenter les résultats dans une feuille de calcul correctement présentée, légendée et citée dans la copie. 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. Cependant dans le cadre de calculs classiques de dilutions (facteur 2, 10...), il n'est pas nécessaire de justifier tous les calculs. Certains candidats ont perdu un temps précieux en détaillant tous les calculs de chaque milieu réactionnel en biologie moléculaire.

La maîtrise des outils informatiques de type tableur est indispensable pour l'analyse et la présentation des résultats.

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 ou un calcul générique nécessaire à l'exploitation de la manipulation.

Le jury invite également les candidats à ne pas négliger les formes de communications que sont les tableaux et schémas qui peuvent faire gagner du temps et sont l'occasion pour les candidats de faire preuve d'un esprit de synthèse.

## **PARTIE 1 : Quantification de l'activité enzymatique d'une polymérase produite au laboratoire**

La majorité des candidats a obtenu des résultats expérimentaux de qualité satisfaisante à l'issue de la qPCR. Le jury attendait l'exploitation de la courbe d'étalonnage afin de déterminer le nombre de copies initiales de produit DPE. La moitié des candidats n'a pas réussi l'exploitation des résultats de cette quantification absolue. De plus, le calcul de la concentration d'activité catalytique en Taq polymérase nécessitait de prendre en compte la succession des réactions DPE, UDG et qPCR. Rares sont les candidats ayant proposé une réponse quantitative.

Le jury attire l'attention des candidats sur la rigueur du vocabulaire employé : une quantification est différente d'une détection.

## **PARTIE 2 : Analyse de l'édition génomique par PIM-RFLP**

La digestion a été correctement réalisée par les candidats, cependant très peu ont analysé leurs résultats au regard de l'efficacité d'édition à l'échelle de la culture.

## **PARTIE 3 : Caractérisation des feruloyl estérases**

Cette partie abordait des mesures cinétiques en continu ou en 2 points. Certains réflexes font défaut aux candidats : préincubation du substrat avant le déclenchement par ajout de l'enzyme, anticipation de l'homogénéisation avec présence de parafilm sur les cuves, déclenchement du chronomètre au préalable, respect de la température de réaction. Le jury a été surpris de voir des tubes contenant la préparation enzymatique, incubés durant plusieurs heures à 30°C ou des réactions réalisées en dehors des bains thermostatés.

Le calcul de la concentration d'activité catalytique nécessitait de prendre en compte la dilution liée à l'ajout du réactif d'arrêt. Il est regrettable que la majorité des candidats n'ait su déterminer le volume de milieu réactionnel.

## **PARTIE 4 : Bilan de l'étude**

Seul un tiers des candidats a réalisé la synthèse de l'étude qui permettait de corréler l'efficacité de l'édition à l'amélioration de l'activité enzymatique.

# TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

## SUJET

### Rôle du gène *sam* dans la physiologie d'*Escherichia coli*

#### Introduction

L'étude du développement des bactéries en milieu liquide est très utilisée en laboratoire pour caractériser ces microorganismes et leur comportement. Cependant, dans leur environnement naturel, beaucoup de bactéries sont attachées à une surface, organisées en communautés structurées, et englobées dans une matrice d'exopolysaccharides. Ce mode de développement, appelé biofilm, a pris une importance toute particulière lorsqu'il a été établi qu'il était impliqué dans un grand nombre d'infections bactériennes. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries du biofilm peuvent ainsi mieux résister que les cellules bactériennes planctoniques à la réponse immunitaire de l'hôte, aux antibiotiques ou aux désinfectants. La présence de biofilms lors d'infections demande donc de nouvelles méthodes de prévention, de diagnostic et de traitement. De même, la présence de biofilms sur des surfaces retrouvées dans le domaine agroalimentaire (à la ferme, à l'abattoir ou dans l'usine de transformation) affectera l'efficacité du protocole de désinfection.

De façon surprenante, la formation de biofilms chez les bactéries pathogènes est un sujet encore relativement peu étudié. Le sujet proposé permet de caractériser un gène nommé *sam* (voir annexe 1) impliqué de plusieurs manières dans la physiologie d'*Escherichia coli*. Le sujet propose notamment d'étudier le rôle du gène *sam* dans la formation d'un biofilm et son implication dans la résistance à un antibiotique.

Le sujet est organisé en cinq parties :

**Partie A : Construction d'un mutant  $\Delta$ *sam* d'*E. coli* par la technique de recombinaison homologue.**

**Partie B : Formation d'un biofilm par une souche d'*E. coli* sauvage (*E. coli* WT) et par une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam* (*E. coli*  $\Delta$ *sam*).**

**Partie C : Effet d'un stress chloramphénicol sur la croissance bactérienne des souches *E. coli* WT et *E. coli*  $\Delta$ *sam*.**

**Partie D : Mobilité de la souche *E. coli* WT et de la souche *E. coli*  $\Delta$ *sam*.**

**Partie E : Métabolisme de la souche *E. coli*  $\Delta$ *sam*.**



**Des annexes sont proposées en fin de sujet.**

**Tous les choix techniques (dilutions, calculs...) doivent être justifiés dans la copie, même ceux qui ne sont pas directement concernés par des questions (les brouillons ne seront pas évalués). La clarté de la présentation des explications et des calculs sera évaluée.**

**Les boîtes devront être identifiées clairement ; elles seront évaluées par le jury en l'absence des candidats.**

## **Données**

Coefficient de correspondance :

1  $D_{600}$  (atténuation à 600nm)  $\leftrightarrow$   $1,0 \cdot 10^8$  bactéries  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, dans la limite d'une  $D_{600}$  de 0,8.

3 solutions d'antibiotiques sont disponibles :

- Ampicilline à 100 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> noté AMP100
- Chloramphénicol à 30 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> noté Cm30
- Tétracycline à 12,5 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> noté TET12,5.

## **Matériel général à disposition**

Agitateur-secoueur mécanique (« vortex »)  
Bac à glace  
Bassine en plastique + papier et aluminium pour créer une chambre humide  
Bec électrique  
Billes de verre stériles et pot de récupération des billes  
Boîtes de Petri stériles  
Bouillon LB stérile (1 flacon de 200 mL par poste)  
Calculatrice basique  
Carton blanc pour incubateur à 37 °C  
Centrifugeuses de paillasse pour microtubes (2 par salle)  
Centrifugeuse pour tubes coniques 50 mL (1 par salle)  
Chronomètres (2 par poste)  
Eau physiologique stérile (tubes de 9 mL, pour la salle)  
Microcuves « visible » pour spectrophotomètre avec portoir  
Microtubes de 2 mL stériles  
Ordinateur avec logiciel tableur  
Parafilm prédécoupé  
Pincés  
Pipettes automatiques P1000, P200, P20, P10 et cônes adaptés  
Pipettes graduées stériles de 1, 2, 5 et 10 mL, systèmes d'aspiration à roulette et propipettes  
Pipettes Pasteur  
Pissettes d'eau distillée, d'éthanol  
Spectrophotomètres (réglés à 600 nm)  
Tubes à essais 20 mL stériles et portoirs adaptés  
Tubes à hémolyse 10 mL stériles et portoirs adaptés  
Tubes coniques 50 mL stériles et portoirs adaptés

## A) Construction d'un mutant *Δsam* d'*E. coli* par la technique de recombinaison homologue.

### Objectif

Réaliser la construction d'un mutant délété du gène *sam*.

### Matériel spécifique à disposition

Arabinose 20 % (microtube de 1,5 mL) noté Ara20%  
CaCl<sub>2</sub> 0,05 mol · L<sup>-1</sup> (flacon de 10 mL) noté CaCl<sub>2</sub> 0,05M conservé dans la glace  
Bain à sec à 42 °C pour microtubes (1 par salle)  
Bain thermostaté agité à 30 °C (1 par salle)  
Bain thermostaté agité à 37 °C (3 par salle), avec flotteurs en polystyrène pour microtubes  
Boîtes de Pétri vides stériles (2 par poste)  
Milieu LB stérile (50 mL en erlenmeyer – voir annexe 2)  
Milieu LA à 1,5 % en agar (2 tubes de 20 mL en surfusion dans l'étuve à 60 °C – voir annexe 2)  
« Produit de PCR » (voir annexe 3 – 25 µL en microtube)  
*E. coli* WT o/n (culture de nuit en milieu LB) porteuse du plasmide pKD46 (voir annexe 4)

### A-1 Préparation des cellules compétentes

#### Procédure

- Diluer au 1/100, la culture de nuit *E. coli* WT o/n dans 50 mL de LB.
- Ajouter la tétracycline à la concentration finale de 12,5 µg · mL<sup>-1</sup>.
- Ajouter l'arabinose à la concentration finale de 0,2 %.
- Incuber à 30 °C pendant 1 heure.
- Après 1 heure d'incubation, transférer les 50 mL de culture dans un tube conique de 50 mL et centrifuger à 3 000 tours par minute pendant 5 minutes.
- Éliminer le surnageant, et reprendre dans 1 mL de CaCl<sub>2</sub> à 0,05 mol · L<sup>-1</sup> glacé, et transférer dans un microtube de 2 mL.
- Centrifuger de nouveau à 10 000 tours par minute pendant 2 minutes et reprendre le culot dans 200 µL de CaCl<sub>2</sub> à 0,05 mol · L<sup>-1</sup> glacé.
- Répartir 2 fois 100 µL en 2 microtubes de 2 mL. Les cellules compétentes doivent être gardées dans la glace.

#### Questions

1. Expliquer l'intérêt de préparer 2 tubes.
2. Expliquer le rôle de la tétracycline et celui de l'arabinose dans cette manipulation.

### A-2 Transformation par choc thermique

Les recombinants seront sélectionnés avec un antibiotique approprié, utilisé à 100 µg · mL<sup>-1</sup>.

#### Procédure

- Ajouter 5 µL de « produit PCR » à 100 µL de cellules compétentes.
- Mettre dans la glace pendant 15 minutes.
- Incuber deux minutes à 42 °C.
- Replacer dans la glace pendant 5 minutes.
- Ajouter 1 mL de LB et incuber 45 minutes la suspension à 37 °C sous agitation (utiliser les flotteurs dans le bain thermostaté à 37 °C).
- Centrifuger à 10 000 tours par minute pendant 2 minutes et reprendre le culot dans 100 µL de LB.
- Déposer 100 µL par boîte de LA préalablement préparée avec l'antibiotique approprié ; étaler à l'aide des billes de verre stériles.
- Incuber à 37 °C toute la nuit.

## Questions

- Justifier le choix de l'antibiotique utilisé.
- Indiquer comment éliminer le plasmide pKD46 de la souche mutée une fois la construction terminée.

## B) Formation d'un biofilm par une souche d'*E. coli* sauvage (*E. coli* WT) et par une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam* (*E. coli* $\Delta$ *sam*).

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polysaccharidique. Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique (par exemple, les cellules d'une muqueuse) qu'à une surface abiotique (le plancher ou l'équipement à la ferme, à l'abattoir ou dans l'usine de transformation). La formation d'un biofilm se fait en plusieurs étapes selon un modèle bien établi (voir annexe 5).

### Objectif

Étudier la formation sur un support plastique d'un biofilm d'une souche d'*E. coli* sauvage et d'une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam*.

### Matériel spécifique à disposition

Microplaque 96 puits et couvercle stériles
--

<i>E. coli</i> WT <i>o/n</i> (culture de nuit en milieu LB) porteuse du plasmide pKD46 (voir annexe 4) <i>E. coli</i> $\Delta$ <i>sam</i> $D_{600} = 1$ (culture de nuit en milieu LB, ajustée à atténuation = 1, à 600 nm) <i>E. coli</i> CARO $D_{600} = 1$ (culture de nuit en milieu LB, ajustée à atténuation = 1, à 600 nm), qui forme des biofilms
---

### Procédure pour la croissance d'un biofilm

Des témoins appropriés doivent être prévus.

- Ajuster la souche *E. coli* WT *o/n* à une atténuation = 1 à 600 nm.
- Diluer à 1/20 en milieu LB chaque culture ajustée à  $D_{600} = 1$ .
- Ajouter dans une microplaque 200  $\mu$ L par puits de chaque souche diluée ; prévoir 8 puits de répétition pour chaque souche.
- Incuber la microplaque pendant 48 heures à 37 °C.

## Questions

- Expliciter la démarche d'ajustage à une atténuation = 1 de la souche *E. coli* WT *o/n*.
- Fournir et justifier la composition des témoins.
- Indiquer le plan de la plaque dans la copie.

## C) Effet d'un stress chloramphénicol sur la croissance bactérienne des souches *E. coli* WT et *E. coli* $\Delta$ sam.

Le suivi de la croissance en conditions particulières revêt une importance cruciale pour comprendre la fonction d'un gène : la comparaison de croissance en l'absence et en présence d'un antibiotique sera effectuée. Ces croissances concerneront deux souches d'*Escherichia coli* (souche *E. coli* WT et *E. coli*  $\Delta$ sam).

### Objectifs

Déterminer l'effet de la délétion du gène *sam* sur les paramètres de croissance, avec et sans chloramphénicol à  $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Observer l'effet de l'antibiotique sur la morphologie des 2 souches à  $t = 120 \text{ min}$ .

### Matériel spécifique à disposition

Bain thermostaté agité à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  (3 par salle)

Microscope, lames et lamelles

Milieu LB stérile (50 mL en erlenmeyer, 4 par poste)

*E. coli* WT o/n (culture de nuit en milieu LB) porteuse du plasmide pKD46 (voir annexe 4)

*E. coli*  $\Delta$ sam o/n (culture de nuit en milieu LB) ; atténuation à 600 nm : .....

### Conditions de croissance

50 mL de LB en erlenmeyer.

Concentration bactérienne initiale (à  $t = 0$ ) :  $5,0 \cdot 10^6$  bactéries  $\cdot \text{mL}^{-1}$  ( $\pm 10 \%$ ).

Culture en bain d'eau à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  sous agitation (120 tours par minute).

### Mesures à effectuer

Mesurer les atténuances à 600 nm pendant trois heures.

**Montrer la mesure d'atténuation à  $t = 0$  au jury. Montrer un prélèvement au jury.**

### Questions

8. Présenter par écrit les résultats d'observations microscopiques. **Faire contrôler par le jury le champ microscopique correspondant à cette observation.**

9. Répondre aux objectifs de la partie.

## D) Mobilité de la souche *E.coli* WT et de la souche *E.coli* $\Delta$ sam.

La capacité d'une souche bactérienne à coloniser un environnement est primordiale à sa propagation. Cependant, il a été montré qu'une souche bactérienne ayant une mobilité réduite avait comme caractéristique de former davantage de biofilm qu'une souche mobile.

Le sujet propose d'effectuer un test de mobilité afin de caractériser ce phénotype chez une souche sauvage et chez le mutant délété du gène *sam*.

### Objectifs

Concevoir une manipulation permettant de visualiser la concentration en agar optimale, comprise entre 0,25 et 0,75 %, pour visualiser la mobilité des bactéries.

Comparer la mobilité de la souche *E.coli* WT et de la souche *E.coli*  $\Delta$ sam, ajustées à atténuation = 1 à 600 nm.

### Matériel spécifique à disposition

Milieu LA à 1,5 % en agar (voir annexe 2 – 1 flacon de 100 mL en surfusion, en étuve à 60 °C)

Boîtes de Pétri vides stériles (8 par poste)

*E.coli* WT o/n (culture de nuit en milieu LB) porteuse du plasmide pKD46 (voir annexe 4)

*E.coli*  $\Delta$ sam D<sub>600</sub> = 1 (culture de nuit en milieu LB, ajustée à atténuation = 1, à 600 nm)

### Procédure

- Par boîte, couler environ 20 mL de LA aux concentrations en agar souhaitées. *Attention, selon les concentrations, le milieu LA peut rester très liquide.*
- Laisser solidifier les boîtes environ 30 minutes.
- Faire un dépôt de 5  $\mu$ L d'une des souches bactériennes ajustées à une atténuation = 1 à 600nm, pour chacune des boîtes de Petri préalablement préparée.
- Incuber les boîtes à 37 °C pour la nuit **sans les retourner**.

### Questions

10. Préciser l'intérêt de travailler avec des concentrations faibles en agar.
11. Indiquer les résultats qui peuvent être obtenus, en fonction du caractère mobile de la souche.

## E) Métabolisme de la souche *E.coli* $\Delta$ sam.

Le profil métabolique d'une bactérie intégrée au sein d'un biofilm diffère de sa forme planctonique.

### Objectif

Étudier le profil métabolique de la souche *E.coli*  $\Delta$ sam.

### Matériel spécifique à disposition

*E.coli*  $\Delta$ sam isolée sur LA

Documentation technique de la galerie api 20 E

Galerie api 20 E

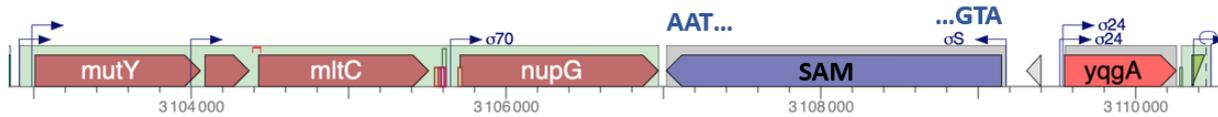
Gélose LA stérile (1 boîte déjà coulée)

Huile de paraffine

### Procédure

La procédure est décrite dans le document technique disponible en salle.

## Annexe 1 – Localisation du gène *sam* dans le chromosome bactérien



Localisation du gène *sam* dans le chromosome d'*E. coli*. Le début de la séquence du gène est signalé par le codon ATG et la fin de la séquence par le codon TAA.

Figure adaptée à partir du site *ecocyc.org*

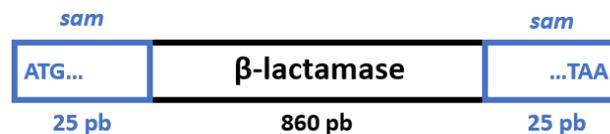
## Annexe 2 – Composition des milieux de cultures

### 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

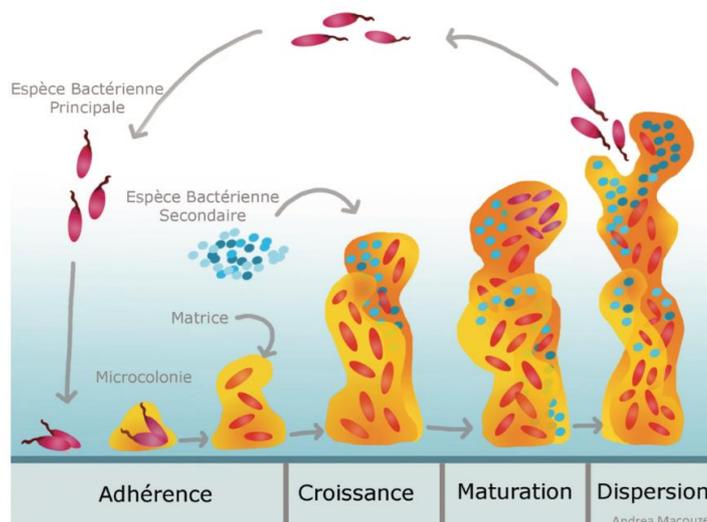
**Milieu « LA » 1,5 % = milieu LB gélosé :** LB avec agar 15 g · L<sup>-1</sup>

## Annexe 3 – Résultat de l'amplification du produit PCR



Résultat de l'amplification du produit PCR permettant la recombinaison homologue. En bleu sont représentées les 25 pb (paires de bases) du début (ATG) et de la fin (TAA) de la séquence du gène *sam*. En noir, sont représentées les 860 pb du gène de la β-lactamase.

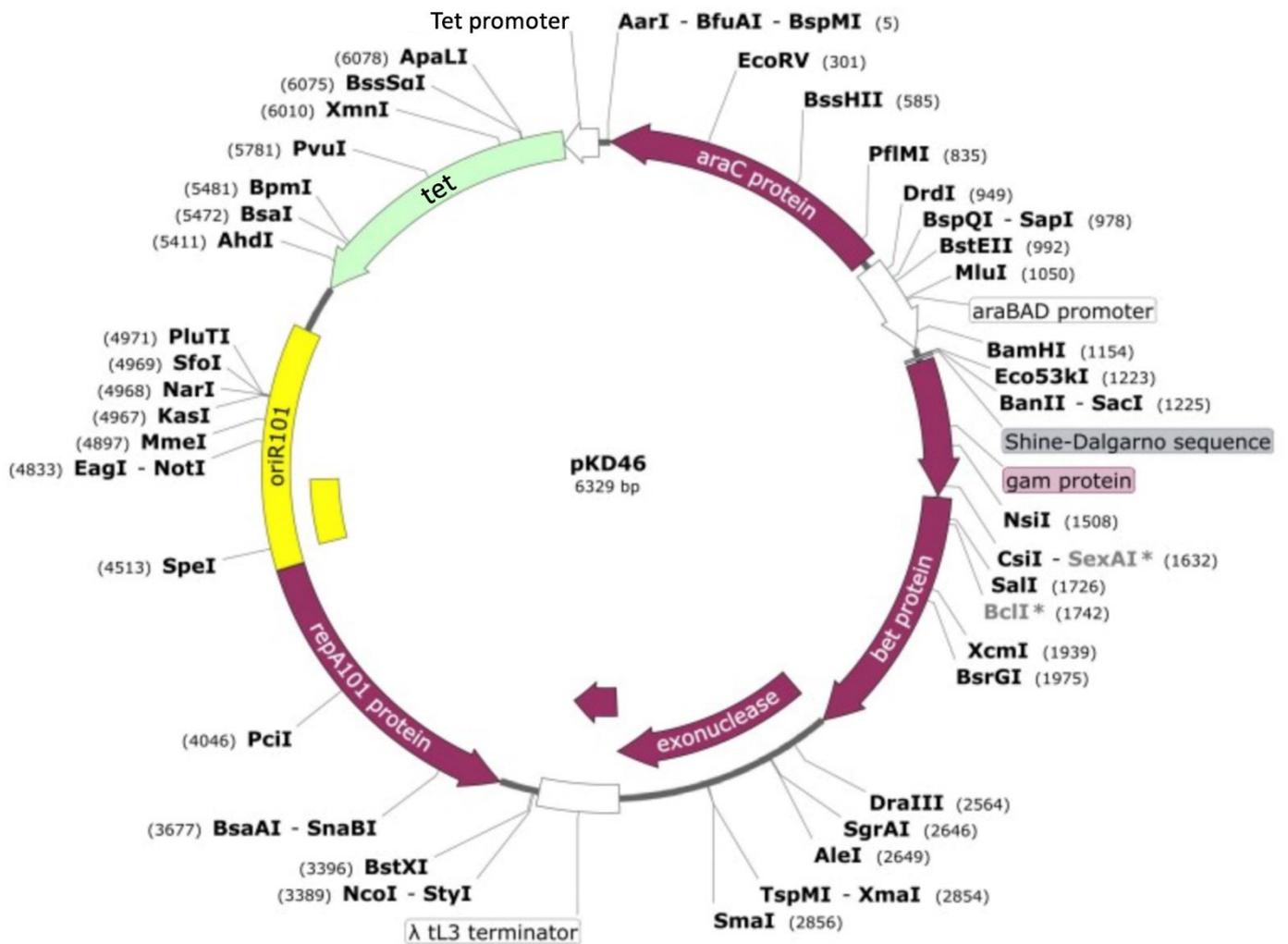
## Annexe 5 – Formation d'un biofilm



Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.

Figure modifiée de "The Journal of Veterinary Research"

## Annexe 4 – Carte du plasmide pKD46



Carte du plasmide pKD46 – recombinaison homologue

*(Temperature sensitive replication (repA101ts); encodes lambda Red genes for recombinaison (exo, bet, gam); native terminator (tL3) after exo gene; arabinose-inducible promoter for expression (araBAD promoter); encodes araC for repression of ParaB promoter; Tetracycline resistant (tet))*

## TRAVAIL DU DEUXIÈME JOUR

Les résultats du premier jour feront l'objet d'une description par les candidats. Les interprétations ne porteront que sur les données proposées, et non sur les résultats obtenus par les candidats.

### A) Construction d'un mutant $\Delta sam$ d'*E. coli* par la technique de recombinaison homologue.

#### Rappel de l'objectif

Réaliser la construction d'un mutant délété du gène *sam*.

#### Lecture des résultats obtenus

Présenter dans la copie les résultats obtenus.

#### Interprétation des résultats proposés

Les résultats proposés à l'interprétation sont présentés en annexe 6.

#### Questions

La concentration de la culture des bactéries compétentes du premier jour a été estimée à  $C = 1,0 \cdot 10^7$  UFC  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

1. Interpréter les résultats proposés.
2. Calculer le rendement la recombinaison.

### B) Formation d'un biofilm par une souche d'*E. coli* sauvage (*E. coli* WT) et par une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam* (*E. coli* $\Delta sam$ ).

#### Rappel de l'objectif

Étudier la formation d'un biofilm sur un support plastique d'une souche d'*E. coli* sauvage et d'une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam*.

#### Matériel spécifique à disposition

Eau désionisée stérile (flacon de 100 mL)  
Solution de cristal violet à 1 % (flacon de 10 mL – annexe 7)  
Solution mélange [éthanol 80 % / acide acétique 20 %] (flacon de 10 mL)

#### B1/ Coloration du biofilm

##### Procédure

Attention, tous les pipetages doivent s'effectuer au centre des puits et non le long de la paroi des puits.

A l'issue de l'incubation de 48h à 37 °C :

- Eliminer les cellules et le liquide en retournant la plaque sur une barquette, puis éliminer le liquide résiduel en retournant et tapotant sur une pile de papier absorbant.
- Ajouter 200  $\mu$ L d'eau désionisée dans chaque puits.
- Eliminer le liquide en retournant la plaque sur une barquette, puis éliminer le liquide résiduel en retournant et tapotant sur une pile de papier absorbant.
- Répéter les deux étapes précédentes une deuxième fois.
- Ajouter 225  $\mu$ L d'une solution de cristal violet à 1 % à chaque puits.
- Incuber la microplaque à température ambiante pendant 15 minutes.
- Eliminer le liquide en retournant la plaque sur une barquette, puis éliminer le liquide résiduel en retournant et tapotant sur une pile de papier absorbant.
- Effectuer deux lavages à l'eau désionisée comme proposé avant l'ajout de cristal violet.

#### Question

3. Expliquer le rôle des deux lavages à l'eau avant l'ajout du cristal violet.

## B2/ Quantification du biofilm

### Procédure

- Ajouter 225 µL de mélange [éthanol 80 % / acide acétique 20 %] à chaque puits.
- Laisser la plaque sur la paillasse pour lecture de l'absorbance à 550 nm par le jury.

### Question

4. Expliquer le rôle, dans cette étape, du mélange [éthanol 80 % / acide acétique 20 %].

## B3/ Résultats à interpréter

Sur le bureau de l'ordinateur de chaque candidat, un fichier nommé *biofilm.xls* propose des résultats à interpréter.

### Questions

5. Déterminer la limite de détection (voir annexe 8) de la méthode.
6. Présenter les résultats proposés sous une forme appropriée.
7. Conclure.

## C) Effet d'un stress chloramphénicol sur la croissance bactérienne des souches *E. coli* WT et *E. coli* $\Delta$ sam.

Cette partie a été traitée le premier jour. Les résultats sont rappelés en annexe 9.

## D) Mobilité de la souche *E. coli* WT et de la souche *E. coli* $\Delta$ sam.

### Rappels des objectifs

Concevoir une manipulation permettant de visualiser la concentration en agar optimale (entre 0,25 et 0,75 %) pour visualiser la mobilité des bactéries.

Comparer la mobilité des souches *E. coli* WT et *E. coli*  $\Delta$ sam, ajustées à atténuation = 1 à 600 nm.

### Matériel spécifique à disposition

Documentation technique de la galerie api 20 E
--

### Lecture des résultats obtenus

Présenter dans la copie les résultats obtenus.

### Interprétation des résultats proposés

Les résultats proposés à l'interprétation sont présentés en annexe 10.

### Question

8. Interpréter les résultats proposés.

## E) Métabolisme de la souche *E. coli* $\Delta$ sam.

### Rappel de l'objectif

Étudier le profil métabolique de la souche *E. coli*  $\Delta$ sam en comparaison de la souche *E. coli* WT.

### Procédure

L'identification de la souche n'est pas attendue ; seul le profil glucidique est à analyser. Une galerie ensemencée avec la souche sauvage *E. coli* WT est disponible dans la salle.

### Lecture des résultats obtenus avec la souche *E. coli* $\Delta$ sam

Présenter dans la copie les résultats obtenus.

## Interprétation des résultats proposés

Une galerieensemencée avec la souche *E. coli*  $\Delta sam$  est disponible dans la salle.

### Questions

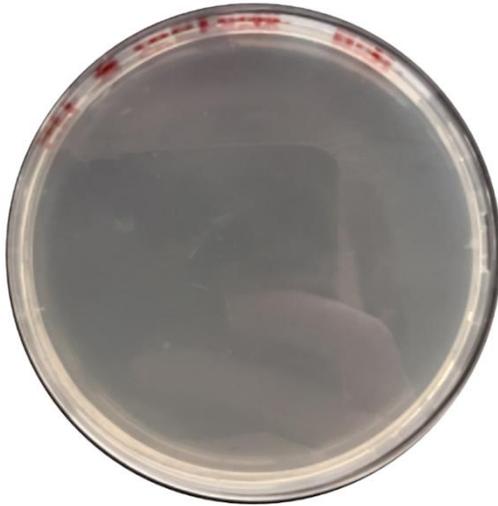
9. Comparer le profil de la souche *E. coli*  $\Delta sam$  et de la souche *E. coli* WT.
10. Proposer une interprétation de ce résultat.

### F) Synthèse.

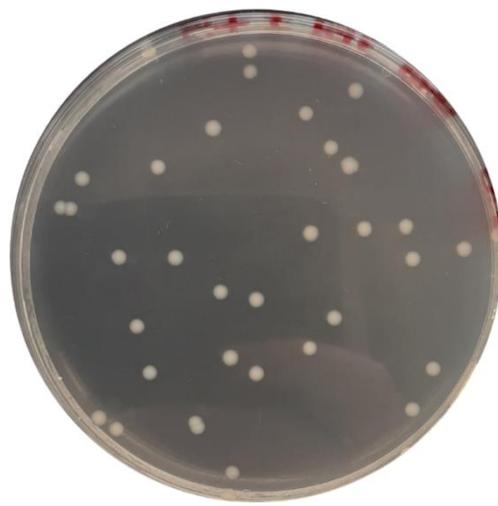
Proposer une conclusion sur l'ensemble des résultats.

## Annexe 6 – Résultats de la culture de 24h à 37 °C des bactéries sur LB + ampicilline à 100 µg · mL<sup>-1</sup>

*E.coli* WT sans produit PCR



*E.coli* WT avec produit PCR



## Annexe 7 – Extrait de la FDS du cristal violet Sigma-Aldrich

### Etiquetage Réduit (<= 125 ml)

Pictogramme



Mention d'avertissement

Danger

Mention de danger

H351

Susceptible de provoquer le cancer.

H318

Provoque de graves lésions des yeux.

Conseils de prudence

P202

Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

P280

Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

P305 + P351 + P338

EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P308 + P313

EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin

## Annexe 8 – Limite de détection

La limite de détection (LOD – *Limit of detection*) est la plus petite concentration du composé à doser que la méthode analytique est capable de détecter (mais pas de quantifier) avec un bon niveau de confiance. A partir de cette concentration, on peut affirmer que le composé est présent. En dessous de cette concentration, le signal est trop proche du bruit de fond analytique. Dans la méthode via l'analyse de blancs, la LOD est définie comme étant :

$$\text{LOD} = \bar{X}_{\text{blanc}} + k \cdot S_{\text{blanc}}$$

avec

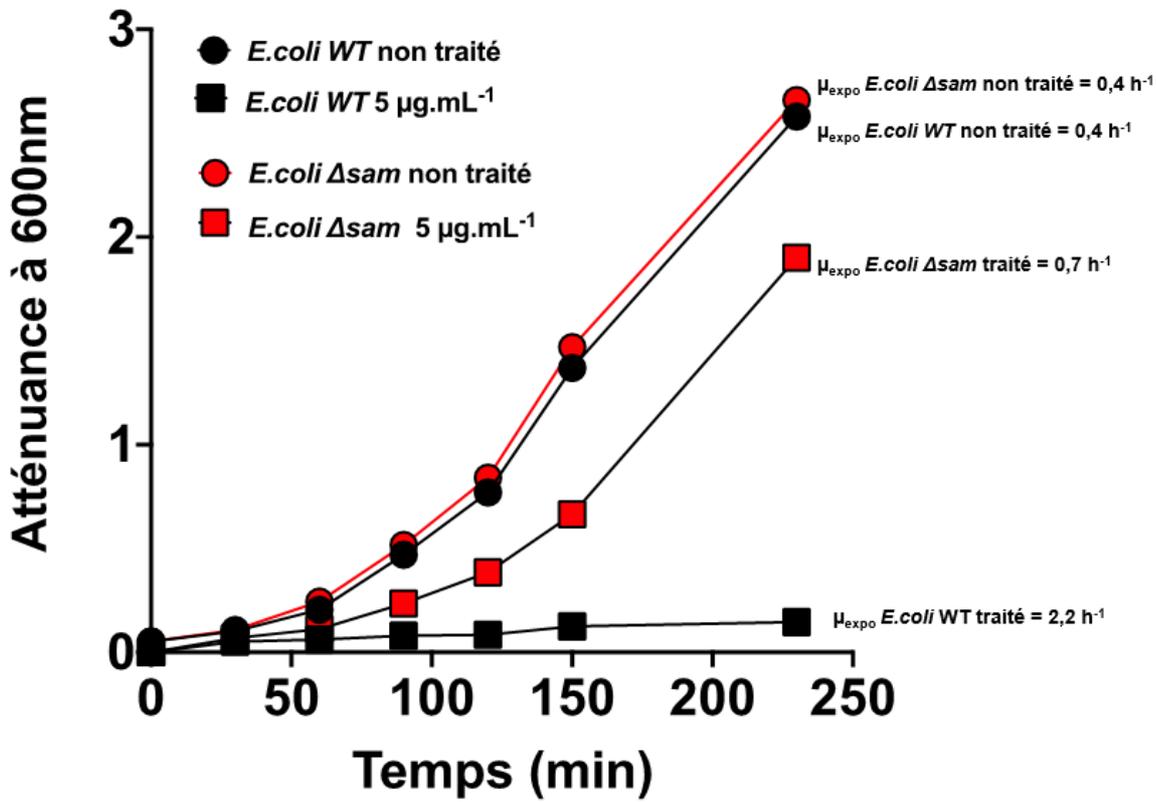
$\bar{X}_{\text{blanc}}$  valeur moyenne de n mesures de blanc indépendants

$S_{\text{blanc}}$  écart-type des mesures des blancs

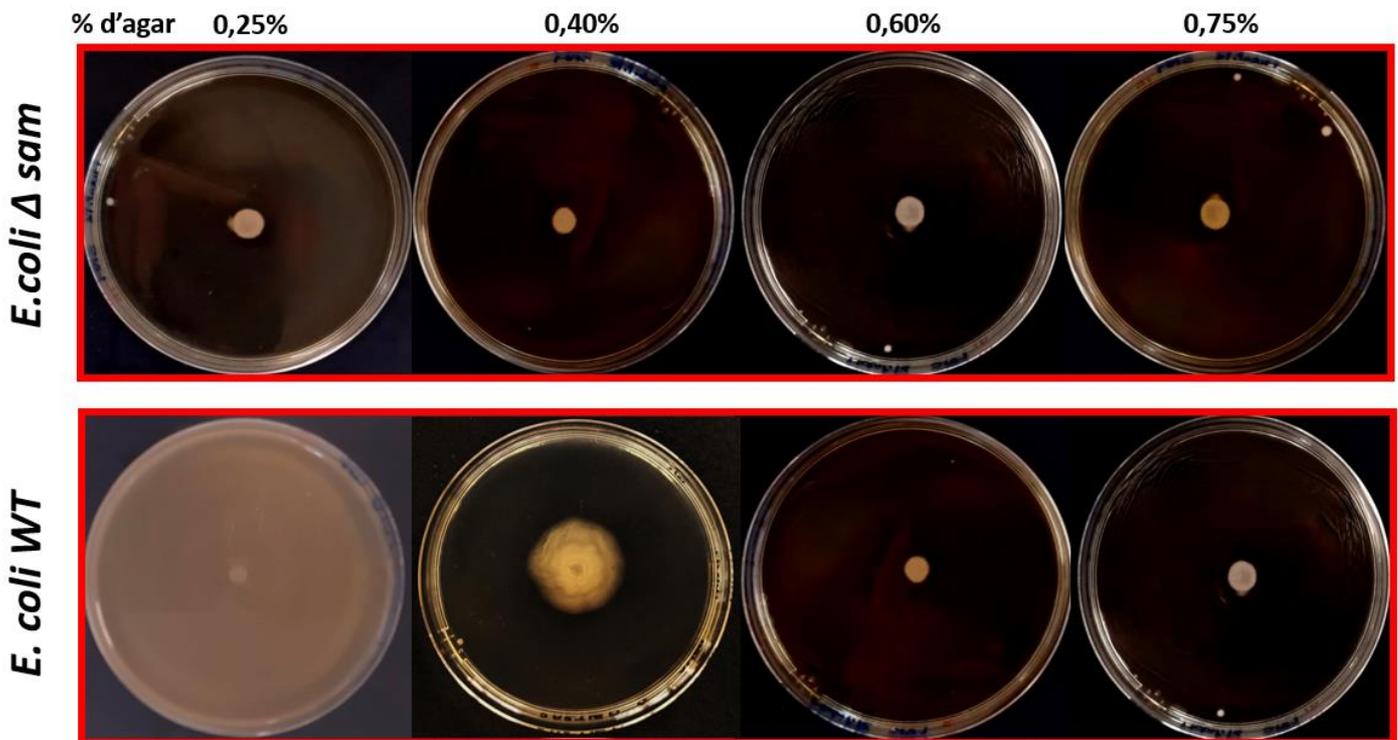
k facteur numérique choisi selon le niveau de confiance. Dans la majorité des cas, k = 3.

D'après <https://chimactiv.agroparistech.fr/fr/methodologie/metrologie/theorie/17>

## Annexe 9 – Résultats de croissance



## Annexe 10 – Résultat des cultures en gamme d'agar



## Le fichier biofilm.xlsx proposait :

	Absorbance à 550 nm							
	Puits n°1	Puits n°2	Puits n°3	Puits n°4	Puits n°5	Puits n°6	Puits n°7	Puits n°8
<b>SOUCHES</b>								
<b>LB</b>	0,113	0,125	0,244	0,147	0,085	0,105	0,13	0,092
<b><i>E. coli</i> CARO</b>	1,455	0,954	0,901	0,943	0,735	1,043	1,407	0,682
<b><i>E. coli</i> <math>\Delta</math>sam</b>	1,91	1,625	1,315	1,301	1,436	1,334	0,88	1,22
<b><i>E. coli</i> WT</b>	0,227	0,192	0,293	0,232	0,176	0,21	0,246	0,233

## RAPPORT DU JURY DE TP DE MICROBIOLOGIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,34 / 20**
- Meilleure note : **16,80 / 20**
- Note la plus basse : **05,40 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,69 / 20**

## Rôle du gène *sam* dans la physiologie d'*Escherichia coli*

Le sujet proposé permettait de caractériser un gène nommé *sam* impliqué de plusieurs manières dans la physiologie d'*Escherichia coli*. Le sujet proposait notamment d'étudier le rôle du gène *sam* dans la formation d'un biofilm et son implication dans la résistance à un antibiotique.

Le sujet était organisé en cinq parties :

**Partie A : Construction d'un mutant  $\Delta$ sam d'*E. coli* par la technique de recombinaison homologue.**

Technique en jour 1, résultats et interprétations en jour 2.

**Partie B : Formation d'un biofilm par une souche d'*E. coli* sauvage (*E. coli* WT) et par une souche d'*E. coli* délétée pour le gène *sam* (*E. coli*  $\Delta$ sam).** Technique en jour 1 et en jour 2, résultats et interprétations en jour 2.

**Partie C : Effet d'un stress chloramphénicol sur la croissance bactérienne des souches *E. coli* WT et *E. coli*  $\Delta$ sam.** Technique, résultats et interprétations en jour 1.

**Partie D : Mobilité de la souche *E. coli* WT et de la souche *E. coli*  $\Delta$ sam.** Technique en jour 1, résultats et interprétations en jour 2.

**Partie E : Métabolisme de la souche *E. coli*  $\Delta$ sam.** Technique en jour 1, résultats et interprétations en jour 2.

En jour 2, une partie F consistait en la synthèse des résultats obtenus

### À PROPOS DU FONCTIONNEMENT DU JURY

Pour l'évaluation, comme l'année dernière, 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.
- Calculer.
- Réinvestir des 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 ensuite 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 devaient tout de même relever leurs propres résultats mais sans les interpréter, et la qualité du compte-rendu a été évaluée avec un accent mis sur la forme proposée pour le rendu des résultats. Ensuite, ce sont des résultats types qui ont été exploités. De cette manière, les erreurs du premier jour, déjà sanctionnées, n'ont pas eu de répercussion sur l'évaluation du deuxième jour. Les candidats n'ayant pas réalisé en jour 1 la technique de la partie B, se sont vus fournir le matériel nécessaire pour poursuivre celle-ci en jour 2. Ainsi tous les candidats devaient à nouveau effectuer un travail technique le deuxième jour. Les candidats devaient relever leurs résultats sans les interpréter. Pour cette partie, l'accent, pour la correction, a été mis sur la forme de rendu des résultats.

En fin d'épreuve, en jour 1 comme en jour 2, la totalité des documents des candidats (copies, mais aussi sujet et brouillons) sont ramassés ; il est cependant très important de rappeler que **seules les copies sont évaluées** (le sujet l'indiquait). Ainsi le conseil donné l'année dernière de rédiger directement sur la copie a été suivi par une majorité de candidats. En jour 2, les candidats disposaient, en plus des sujets, de l'ensemble de leurs documents du jour 1.

Le sujet indiquait clairement, en amont de toutes les questions, que tous les choix et raisonnements faits (composition d'un témoin, dilution pour ajuster une suspension microbienne, calculs de volumes de réactifs pour préparer un milieu...) devaient être clairement présentés même s'ils n'étaient pas l'objet d'une question explicite, cette compétence étant essentielle pour un futur enseignant ou un futur chercheur. En dehors de toutes ces explications et calculs qui devaient être justifiés « au fil de l'eau », la réponse aux questions numérotées devait être à chaque fois clairement identifiée, ce qui n'a pas toujours été le cas.

### À PROPOS DES CANDIDATS

S'agissant d'un concours sélectif, le sujet était dense et long, et nécessitait donc une bonne organisation. La capacité de planification d'un travail technique et de priorisation des tâches est un élément que le jury cherche à évaluer. Le sujet présentait cinq parties. La partie A comportait deux temps d'incubations successifs de 1 heure et 45 minutes respectivement. La partie C était une croissance en milieu liquide avec un suivi sur 3 heures. Les parties B et D nécessitaient d'utiliser une souche normalisée à une atténuation

à 600 nm de 1 et donc la même suspension ajustée pouvait être utilisée dans ces deux parties. Une lecture attentive du sujet et une planification des manipulations avant de lancer celles-ci étaient donc nécessaires.

La majorité des candidats organisent et gèrent correctement leur poste de travail ; les bonnes pratiques sont majoritairement respectées, et le bec électrique convenablement utilisé.

Les candidats disposent de deux paillasses, l'une pour les manipulations, l'autre pour la rédaction. Le candidat doit s'installer assis avec les jambes sous la paillasse lorsqu'il manipule en face du bec électrique. Des candidats travaillent debout ce qui n'est pas la forme scolaire mais n'est pas nécessairement rédhibitoire... sauf s'ils s'agenouillent à même le sol pour leurs ajustages volumétriques : cela pose alors des problèmes évidents d'hygiène et de sécurité.

Cette année, le jury n'a pas relevé d'erreur technique récurrente majeure. Il est néanmoins rappelé que le pipetage de volumes précis nécessite une position verticale de la pipette. Les candidats organisent globalement bien leur travail et utilisent correctement les équipements. Le jury a cependant constaté des erreurs comme l'oubli d'homogénéisation des prélèvements, qui souvent suffisent à pénaliser le candidat par l'impact sur le résultat expérimental. Une mauvaise utilisation des EPI a été observée dans quelques cas (pas de lunettes ni de gants pour un produit les nécessitant, ou gants utilisés trop près du bec électrique allumé).

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

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

Des candidats se perdent et intervertissent leurs cuves qui ne sont pas individuellement identifiées. Une identification correcte de tous les contenants fait partie des bonnes pratiques. De même, l'annotation des boîtes de Pétri, microplaques et microgaleries préalablement à l'incubation doit être correctement effectuée (surtout pas sur le couvercle) et être complète, afin de garantir la traçabilité des expériences.

En jour 1 et en jour 2, les candidats devaient utiliser l'outil informatique. Il fallait nommer des fichiers et les laisser sur le bureau de l'ordinateur. Le jury s'attend à ce que les fichiers créés soient nommés comme demandé (précisé au tableau).

Des erreurs grossières ont parfois été faites sur des calculs simples. Par ailleurs, il faut soigner la présentation des calculs complexes : une équation aux grandeurs est nécessaire pour la compréhension du lecteur et la vérification de la prise en compte des grandeurs pertinentes pour le calcul. Elle permet de plus de positionner les unités en les vérifiant puis de poser le calcul à effectuer sans omettre d'éléments pour le calcul final. La clarté des calculs était évaluée et le sujet l'avait annoncé.

Pour autant, certains calculs de dilution, très simples ( $1/10^{\text{ème}}$ ,  $1/1000^{\text{ème}}$ ) devraient faire l'objet d'explications plus succinctes.

## **PARTIE A (jour 1)**

### **Construction d'un mutant $\Delta sam$ d'*E. coli* par la technique de la recombinaison homologue**

Cette partie consistait en la construction d'un mutant du gène *sam* par recombinaison homologue. La souche d'*Escherichia coli* WT fournie contenait le plasmide pKD46. Ce plasmide porte un gène de résistance à la tétracycline, des gènes codant des protéines permettant la recombinaison homologue sous la dépendance d'un promoteur régulé par la présence d'arabinose. La réplication de ce plasmide est en

outré sensible à la température. La version mutée du gène à introduire était fournie sous forme de produit issu de la PCR. Dans ce fragment de PCR, le gène de la  $\beta$ -lactamase était flanqué des 25 premières et des 25 dernières paires de bases du gène *sam*. L'enzyme synthétisée à partir de ce gène permet la dégradation des antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines, dont l'ampicilline fait partie.

Les candidats devaient :

- Préparer des cellules compétentes par la méthode au  $\text{CaCl}_2$ .
- Réaliser une transformation par choc thermique à l'aide d'un fragment d'ADN fourni.
- Concevoir et réaliser un témoin de la manipulation.
- Prévoir l'antibiotique permettant de sélectionner les transformants.

#### **COMMENTAIRES :**

La technique ne présentait pas de difficulté particulière et était expliquée dans le sujet. La plupart des candidats ont démarré cette partie rapidement puisqu'elle comportait deux temps longs d'incubation (1 h puis 45 min).

Cette partie nécessitait la préparation de milieux additionnés de différents réactifs. Il fallait également anticiper la préparation des milieux gélosés contenant l'antibiotique sur lesquels réaliser les étalements en fin de manipulation.

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

- le choix du bon antibiotique pour préparer les boîtes,
- le calcul du volume d'antibiotique à ajouter dans les géloses en surfusion !,
- une anticipation insuffisante de la manipulation ne permettant pas d'aller jusqu'à l'étalement des transformants sur le milieu gélosé supplémenté en ampicilline,
- une confusion entre transformation et recombinaison lors de l'interprétation des résultats.

## **PARTIE B (jour 1 et jour 2)**

### **Formation d'un biofilm par une souche d'*E. coli* WT et par une souche d'*E. coli* $\Delta$ sam**

La formation d'un biofilm sur un support plastique par les deux souches proposées devait être comparée à deux témoins. Un témoin rendant compte de la non-formation de biofilm, à savoir l'utilisation de milieu de culture LB stérile, et un témoin permettant de visualiser la formation de biofilm, à savoir l'utilisation d'une souche *E. coli* CARO connue pour adhérer à des supports et former des biofilms.

Il fallait en jour 1 :

- Ajuster la souche *E. coli* WT o/n à une atténuation = 1 à 600 nm (cette suspension ajustée était également utilisée dans la partie D).
- Ensemencer une microplaque avec 8 puits de répétition par souche.
- Concevoir et réaliser les témoins.

Et en jour 2 :

- Réaliser la révélation du biofilm (lavages, incubation en présence de cristal violet à 1%, solubilisation du cristal violet avec un mélange éthanol/acide acétique).
- Exploiter les résultats fournis au sein d'un fichier, pour déterminer la limite de détection et réaliser une exploitation graphique

#### **COMMENTAIRES :**

Cette partie ne présentait pas de difficulté technique particulière.

Une microplaque ensemencée pouvait être fournie aux candidats en jour 2.

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

- la difficulté à expliquer clairement l'ajustage de la suspension à  $D_{600nm} = 1$ ,
- l'oubli du témoin milieu de culture en jour 1,
- l'oubli du port de certains EPI en jour 2,
- l'oubli de l'analyse de la conformité des témoins, nécessaire à la validation de la technique avant toute autre interprétation en jour 2,
- l'absence d'une exploitation graphique pertinente des résultats fournis.

## **PARTIE C (jour 1)**

### **Effet d'un stress chloramphénicol sur la croissance bactérienne des souches *E. coli* WT et *E. coli* $\Delta$ sam**

Les candidats devaient :

- Réaliser une étude différentielle des capacités de croissance des différentes souches avec et sans antibiotique.
- Observer les conséquences de ces conditions sur la morphologie des bactéries (à 120 minutes).

#### **COMMENTAIRES :**

Cette partie ne présentait pas de difficulté technique particulière, mais nécessitait une planification rigoureuse. Les candidats devaient étudier en parallèle quatre cultures. Le suivi demandé de la croissance était long (3 h) et répété : il fallait donc lancer les croissances le plus vite possible. Il faut noter que les temps de mesures de l'atténuation étaient laissés à l'appréciation des candidats. Il est important de remarquer que des temps trop espacés ne permettent pas de déterminer correctement les paramètres de la croissance tandis que des temps trop rapprochés nuisent au reste du sujet. Il est par ailleurs nécessaire de mesurer les différentes cultures de façon synchrone pour se dégager du temps pour les autres manipulations. Les candidats ont majoritairement traité cette partie même s'ils ne sont pas toujours allés au bout de l'interprétation demandée.

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

- réalisation de 4 graphiques au lieu de superposer les courbes pour mieux les comparer,
- insuffisance des légendes et des unités,

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

Il fallait nommer correctement le fichier informatique demandé. L'interprétation des résultats obtenus était demandée en jour 1.

Les observations microscopiques ne demandaient que peu d'effort et de temps, mais n'ont la plupart du temps pas été réalisées. Pour les candidats qui les ont faites, le mutant  $\Delta sam$  était immobile contrairement à la souche *WT*. En présence d'antibiotique aucune mobilité n'était observée pour la souche *WT*. Après préparation des états-frais, il fallait réaliser rapidement les observations pour que celles-ci soient correctes.

## **PARTIE D (jour 1)**

### **Mobilité des souches *E. coli WT* et *E. coli $\Delta sam$***

Les candidats devaient mettre au point une technique permettant d'observer la mobilité des souches *WT* et  $\Delta sam$  en milieu semi-gélosé en boîte de Pétri à partir d'une procédure proposée.

Les candidats devaient :

- Réaliser une gamme de boîtes LA en agar de 0,25 % à 0,75 %.
- Réaliser un dépôt des deux souches ajustées à une atténuation à 600 nm = 1 (5  $\mu$ L).

### **COMMENTAIRES :**

Cette partie n'a pas été traitée par tous les candidats. La conception d'une gamme simple de dilutions, exercice pourtant classique en laboratoire, a semblé poser des problèmes à plus d'un candidat.

L'annotation des boîtes était importante pour permettre la lecture par le jury entre le jour 1 et le jour 2. Celle-ci a laissé à désirer (% en agar, souche déposée, ...).

La réalisation des boîtes à différentes concentrations en agar nécessitait une réalisation boîte par boîte car le mélange LB + agar à 1,5 % avait tendance à prendre en masse assez rapidement. Certains candidats ont quant à eux réalisé le mélange directement dans les boîtes mais malgré une étape d'homogénéisation, les milieux ainsi fabriqués sont restés non uniformes. La notion de dépôt (5  $\mu$ L) a aussi posé problème à quelques candidats qui ont étalé celui-ci avec des billes au lieu de le laisser sécher en goutte.

En jour 2, une annexe proposait des résultats. Bien que les objectifs de la partie étaient rappelés dans le sujet du jour 2, beaucoup de candidats n'ont pas répondu explicitement aux questions posées :

- Déterminer la concentration optimale d'agar pour visualiser la mobilité des bactéries : soit cette question n'a pas été traitée (le candidat ne parle que des souches), soit elle l'a été de manière sous entendue – les pourcentages d'agar sont cités dans le développement du texte mais il n'y a pas de phrase qui explicite les concentrations adaptées ou non.
- Comparer la mobilité des souches : beaucoup de candidats n'ont proposé qu'une présentation sommaire des résultats des deux souches comme s'il n'y avait pas de lien entre elles, et donc sans en déduire le rôle du gène *sam*, qui restait la question posée dans le titre du sujet.

## **PARTIE E (jour 1 et jour 2)**

### **Métabolisme de la souche *E. coli Δsam***

Une microgalerie API20E était à ensemencher avec la documentation technique fournie. Il s'agissait d'interpréter les résultats du métabolisme des glucides et une galerie réalisée avec la souche *E. coli WT* était fournie en jour 2.

#### **COMMENTAIRES :**

Cette partie ne comportait pas de difficulté particulière mais elle n'a pas été traitée par tous les candidats, sans doute faute de temps.

En jour 2, une galerie proposant le profil de la souche sauvage (*WT*) était disponible pour tous les candidats ; une galerie proposant le profil de la souche  $\Delta sam$  était également disponible pour les candidats qui le souhaitaient (essentiellement ceux qui n'avaient pas fait la galerie en jour 1). Une lecture attentive du sujet aurait permis à certains candidats de se concentrer uniquement sur l'interprétation des résultats liés au métabolisme des glucides, au lieu de perdre du temps sur la galerie complète ; l'identification n'était explicitement pas attendue.

Là encore, beaucoup de candidats ne font pas de lien entre les deux bactéries et n'aboutissent donc pas à mettre en évidence le rôle du gène *sam*, se contentant de lister les + et les -. Quelques candidats cependant ayant bien compris l'objectif, ont proposé ici une comparaison des deux souches, et une explication (dont la nature était totalement ouverte) : implication des glucides dans les polyosides du biofilm, adaptation du métabolisme à une vie communautaire spécifique au biofilm, adaptation du métabolisme à une biodisponibilité différente des nutriments dans le biofilm... L'effort intégratif dans le cadre du sujet a été apprécié.

## **PARTIE F (jour 2)**

### **Synthèse**

La partie F correspondait en une relecture et une synthèse de l'ensemble des résultats obtenus. Deux grandes critiques peuvent être faites à cet endroit :

- Beaucoup de candidats ont conclu sur les souches, et notamment sur la souche  $\Delta sam$  plutôt que de répondre au sujet posé (le titre était « Rôle du gène *sam* dans la physiologie d'*Escherichia coli* »).
- Beaucoup de candidats ont effectué une longue redite très détaillée des conclusions déjà faites au fil des différentes parties. Cette paraphrase n'apportait rien et demandait même du temps – elle a même parfois été l'objet de contresens avec un texte montrant des confusions entre le profil de la souche  $\Delta sam$  et le rôle du gène *sam*.

Finalement les meilleures synthèses ont souvent été les plus courtes, qui utilisaient un schéma, un graphique ou encore un tableau pour résumer les différentes informations obtenues, et une brève hypothèse (ouverte, donc) ouvrant par exemple vers le métabolisme des polyosides du biofilm.

# TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

Le sujet de l'épreuve pratique de Chimie présenté ci-dessous correspond au sujet initialement prévu. Toutefois, l'interruption de nature exceptionnelle (alerte à la bombe) de l'épreuve pratique de chimie, et ce une heure après son début, et pour une durée de 4 heures, a amené les membres du jury (en concertation avec le Directoire) à modifier l'épreuve. Ainsi et de manière à maintenir cette épreuve, tout en garantissant l'équité de traitement des candidats/candidates et l'évaluation de leurs compétences pratiques en chimie, l'épreuve a repris le lendemain matin pour une durée de deux heures, en ne concernant que les parties les parties expérimentales et leurs interprétations : c'est-à-dire celles initiées au cours de la première heure d'épreuve, et l'ensemble des parties expérimentales non traitées la veille. L'ensemble des questions de connaissance qui jalonnaient l'épreuve a donc été exceptionnellement supprimé.

## SUJET

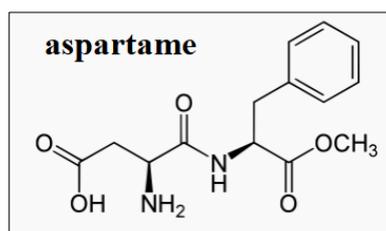
### Étude de l'aspartame

L'aspartame est un dipeptide découvert en 1965 dont la formule topologique est donnée ci-dessous. Son fort pouvoir sucrant (deux cents fois supérieur à celui du saccharose) a conduit les industries agroalimentaires à l'utiliser comme édulcorant incorporé aux aliments ou conditionné sous forme de poudre ou de comprimé (sucrette).

L'aspartame a été mis sur le marché états-unien en 1974 mais commercialisé en France qu'en 1988 du fait d'études diverses relevant ses caractères cancérigènes. Récemment, en juillet le Centre international de recherche sur le cancer de l'Organisation Mondiale de la Santé a classé l'aspartame C2B, dire « peut-être cancérigène ».

Ce sujet se compose de trois parties expérimentales autour de l'aspartame, ainsi que d'une étude théorique de la synthèse et de la réactivité de l'aspartame, de données spectroscopiques, et de données cinétiques. La première partie expérimentale est consacrée à la détermination de la quantité d'aspartame dans une sucrette commerciale, la deuxième traite de la réaction d'hydrolyse de l'aspartame et de sa caractérisation par chromatographie sur couche mince. La troisième partie expérimentale comprend le titrage de l'acide aspartique, composé à partir duquel une synthèse organique de l'aspartame est ensuite présentée. Les deux premières parties expérimentales nécessitent chacune un **temps d'attente d'au moins 30 minutes** : cette durée devra être prise en compte pour l'organisation du travail du candidat ou de la candidate.

Le sujet comporte deux types d'encadrés décrivant des manipulations expérimentales. Les **documents** ont un fond grisé et décrivent des manipulations ayant été faites précédemment. Ils ne sont donc pas à réaliser pendant l'épreuve. Les **protocoles** ont un fond blanc et sont à réaliser pendant l'épreuve. Les



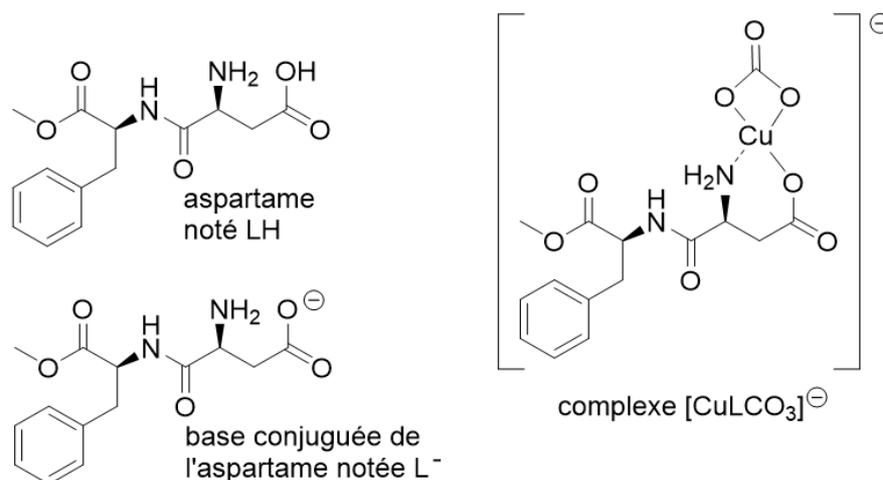
n'a été  
2023,  
c'est-à-

de la

protocoles sont au nombre de trois et sont situés pages 6 et 7.  
L'énoncé comporte quatorze pages dont une page de garde, quatre pages d'annexes en fin de sujet, et un **document-réponse page 15, à rendre avec la copie.**

# I. Détermination de la quantité d'aspartame dans une sucrette commerciale

Dans cette partie, on souhaite déterminer le pourcentage massique d'aspartame dans une sucrette commerciale, le fabricant indiquant sur l'étiquette « édulcorants : aspartame 12% acésulfame-K 4% ». Pour cela, on souhaite tout d'abord mesurer la concentration d'aspartame dans une solution issue de la dissolution de sucrettes dans de l'eau. On effectue dans ce but un dosage spectrophotométrique, l'espèce absorbante étant le complexe  $[\text{CuLCO}_3]^-$  ci-dessous :



## 1. Étude théorique du ligand L<sup>-</sup> et de la formation du complexe $[\text{CuL}(\text{CO}_3)]^-$

1. Définir la denticité d'un ligand, et donner celle de L<sup>-</sup> dans le complexe étudié.

Expérimentalement, le complexe  $[\text{CuL}(\text{CO}_3)]^-$  est obtenu par échange de ligand à partir du complexe  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$  qui a été préalablement préparé (solution **S<sub>1</sub>** disponible). La façon dont la solution **S<sub>1</sub>** a été préparée est présentée dans le document ci-dessous.

### **Document 1 : Préparation de la solution aqueuse **S<sub>1</sub>** de $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$**

Dans une fiole jaugée de 100 mL, une masse de sulfate de cuivre pentahydraté de 1,50 g est ajoutée, puis dissoute dans 20 ml d'eau.

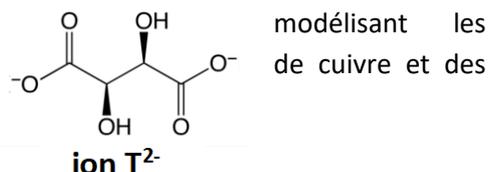
Dans un erlenmeyer de 100 mL, une masse de sel de Rochelle (sel composé de l'ion tartrate, noté T<sup>2-</sup>, et des ions potassium et sodium) voisine de 7,50 g est ajoutée, puis dissoute dans 20 mL d'eau.

En agitant la fiole jaugée à la main, la solution de sel de Rochelle est ajoutée à celle de cuivre.

La fiole jaugée est ensuite complétée au trait de jauge avec une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1,0 mol.L<sup>-1</sup>.

2. Écrire les équations chimiques successives des réactions transformations chimiques ayant lieu lorsque l'on mélange du sulfate ions carbonate, et calculer leurs constantes thermodynamiques.

3. En déduire que le complexe  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$  est le produit thermodynamique attendu lors d'un tel mélange.



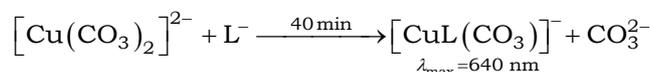
Expérimentalement, le solide Cu(CO<sub>3</sub>) se dissout très lentement.

4. En déduire l'intérêt du sel de Rochelle pour préparer la solution **S<sub>1</sub>**.

5. Déterminer la valeur de la concentration molaire en  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$  dans la solution  $\mathbf{S}_1$ .

## 2. Courbe d'étalonnage

Le complexe  $[\text{CuL}(\text{CO}_3)]^-$  est obtenu par échange de ligand selon l'équation chimique suivante :



**Les deux complexes de cuivre sont colorés** : ils absorbent notamment à la longueur d'onde choisie pour les mesures (640 nm).

Il est donc nécessaire de réaliser préalablement une courbe d'étalonnage. Pour cela, le protocole décrit dans le document ci-dessous a été suivi.

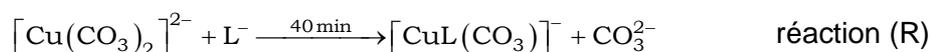
### Document 2 : Mesures d'absorbance de solutions de complexes de cuivre

Soit  $\mathbf{S}_1$  une solution de  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$  à la concentration  $C_1 = 6,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Soit  $\mathbf{S}_2$  une solution d'aspartame à la concentration  $C_2 = 2,50 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . On considère que dans ces conditions l'aspartame se trouve sous la forme  $\text{L}^-$ .

5,0 mL de  $\mathbf{S}_1$  sont introduits dans une fiole jaugée de 25 mL. Un volume  $V$  de  $\mathbf{S}_2$  est ajouté et la fiole jaugée est complétée au trait de jauge avec de l'eau distillée.

La couleur bleue change de teinte et devient plus foncée. On observe la transformation suivante :



Après 40 minutes d'attente sous agitation, l'absorbance à 640 nm est mesurée. On obtient les résultats suivants :

V (mL)	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0
$A_{640}$	0,3310	0,4829	0,6377	0,7848	0,9313

6. Calculer les concentrations des deux complexes à l'état final de la réaction (R) pour chaque volume  $V$  ajouté, et compléter le tableau du document-réponse avec les valeurs obtenues. On considèrera que la réaction (R) est totale.

7. Soit  $\varepsilon_1$  le coefficient d'absorption molaire de  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$  ;  $\varepsilon_2$  le coefficient d'absorption molaire de  $[\text{CuL}(\text{CO}_3)]^-$  ;  $C_0$  la concentration totale en élément cuivre ;  $A$  l'absorbance de la solution ;  $\ell$  la longueur de la cuve et  $x$  l'avancement volumique de la réaction (R).

En utilisant la loi de Beer-Lambert, démontrer la relation  $A = \varepsilon_1 \ell C_0 + (\varepsilon_2 - \varepsilon_1) \ell x$ .

8. Dédire des données expérimentales fournies les valeurs numériques de  $\varepsilon_1$  et de  $\varepsilon_2$ . On prendra  $\ell = 1,0 \text{ cm}$ .

## 3. Détermination du pourcentage massique d'aspartame dans une sucrète

### Protocole 1 : Détermination du pourcentage massique d'aspartame dans une sucrète :

Peser précisément huit sucrètes et les introduire dans un erlenmeyer de 50 mL. Ajouter environ 30 mL d'eau distillée et laisser le milieu sous agitation pendant 10 minutes. Filtrer le mélange à l'aide d'un filtre plissé et introduire le filtrat dans une fiole jaugée de 50,0 mL. Rincer le filtre avec un peu d'eau distillée et compléter la fiole jusqu'au trait de jauge. On obtient alors la solution  $\mathbf{S}_3$ .

Introduire 5,0 mL de  $\mathbf{S}_1$  dans une fiole jaugée de 25,0 mL. Ajouter 10,0 mL de  $\mathbf{S}_3$  et compléter la fiole jaugée jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après 40 minutes d'attente sous agitation, mesurer l'absorbance à 640 nm.

9. Noter la valeur d'absorbance obtenue sur le document-réponse.
10. Déduire de cette valeur et des résultats de la partie I.2 la concentration en aspartame de la solution  $S_3$ .
11. En déduire le pourcentage massique d'aspartame dans les sucrètes commerciales fournies.

## II. Hydrolyse de l'aspartame et analyse par CCM

On se propose dans cette partie d'étudier la réaction d'hydrolyse de l'aspartame en milieu acide.

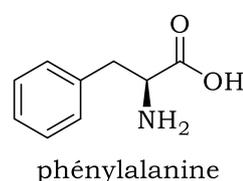
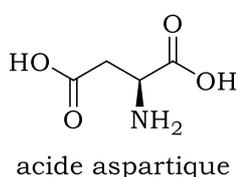
12. Sur la molécule d'aspartame représentée dans le document-réponse, entourer les groupes caractéristiques et nommer les fonctions chimiques correspondantes.
13. Écrire l'équation chimique de la réaction modélisant l'hydrolyse de l'aspartame.

### Protocole 2 : hydrolyse de l'aspartame et analyse par CCM

Introduire quatre sucrètes dans un erlenmeyer, et y ajouter 20 mL d'acide chlorhydrique de concentration  $1 \text{ mol.L}^{-1}$ . Chauffer ensuite le milieu à reflux avec un réfrigérant à air sous agitation pendant 10 minutes. Laisser refroidir pendant cinq minutes et prélever ensuite 5 mL du milieu réactionnel et l'introduire dans un bécher. Y ajouter progressivement du carbonate de sodium solide en prenant garde à maîtriser l'effervescence. Quand l'effervescence n'a pratiquement plus lieu, s'assurer de la quasi-neutralité du milieu réactionnel.

Analyser ensuite le milieu obtenu par chromatographie sur couche mince (CCM) sur surface de silice, en utilisant comme éluant un mélange butan-1-ol/acide éthanoïque/eau 6/2/2. On déposera également sur la CCM :

- Une solution réalisée avec une dissoute dans 5 mL d'eau
- Une solution d'aspartame
- Une solution d'acide aspartique
- Une solution de phénylalanine



sucrète

Réaliser les dépôts à l'aide d'une micropipette réglée sur  $1 \mu\text{L}$ . En effectuant les dépôts en plusieurs fois, déposer  $4 \mu\text{L}$  du milieu réactionnel et  $2 \mu\text{L}$  de chacune des solutions de référence. **Laisser l'élution se faire pendant au moins trente minutes.** Sécher ensuite la plaque au sèche-cheveux, puis pulvériser une solution de ninhydrine sur la plaque éluée. Révéler ensuite la plaque par chauffage en la posant sur une plaque chauffante, **en ayant fait préalablement appel à un membre du jury pour observation.**

14. D'où vient l'effervescence observée ? Écrire l'équation de la réaction correspondante.
15. Recopier sommairement le chromatogramme révélé obtenu sur le document-réponse.
16. Interpréter le chromatogramme révélé et conclure quant à l'avancée de la réaction.
17. Proposer une explication à la différence observée des vitesses de migration de la phénylalanine et de l'acide aspartique.

## III. Titrage de l'acide aspartique

Dans la perspective de la mise en œuvre de la synthèse de l'aspartame (voir partie IV), on désire vérifier la pureté d'un échantillon d'acide aspartique (noté **A**, structure donnée au protocole 2), pureté estimée à 90 % en masse. Pour cela, on réalise un titrage suivi par pH-métrie, dont le protocole est donné ci-dessous :

### Protocole 3 : titrage pH-métrique de l'acide aspartique

Dans un bécher de 100 mL, peser une masse d'environ 0,120 g de l'échantillon **A**. Y ajouter 50 mL d'eau distillée et mettre sous agitation pendant quelques minutes de façon à assurer la solubilité de l'échantillon. Titrer la solution obtenue par une solution d'hydroxyde de sodium à  $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ .

18. En solution aqueuse, l'acide aspartique n'a pas la structure donnée précédemment. Par analogie avec le comportement des acides aminés dans l'eau, proposer une structure correcte pour **A** en solution aqueuse. Comment s'appelle un tel composé ?
19. Le volume d'eau distillée ajouté avant le titrage doit-il être prélevé précisément ? Expliquer.
20. En considérant l'acide aspartique comme un acide faible (le  $pK_A$  du couple correspondant valant 3,7), calculer le pH théorique de la solution titrée avant le titrage.
21. Écrire les équations des réactions pouvant avoir lieu lors du titrage, en précisant la structure des produits obtenus.
22. Calculer les constantes thermodynamiques de ces réactions et conclure quant au nombre de sauts de pH que l'on s'attend à obtenir.
23. Effectuer le titrage demandé et tracer la courbe de titrage obtenue sur l'ordinateur en utilisant le logiciel de votre choix.
24. Exploiter la courbe tracée afin d'en déduire la pureté massique de l'échantillon dosé.
25. Proposer, en justifiant, une autre technique expérimentale que l'on aurait-on pu utiliser afin de suivre ce titrage.

## IV. Étude de la synthèse de l'aspartame

### 1. Étude spectroscopique de l'acide aspartique

Le spectre RMN de l'acide aspartique présente les signaux suivants :

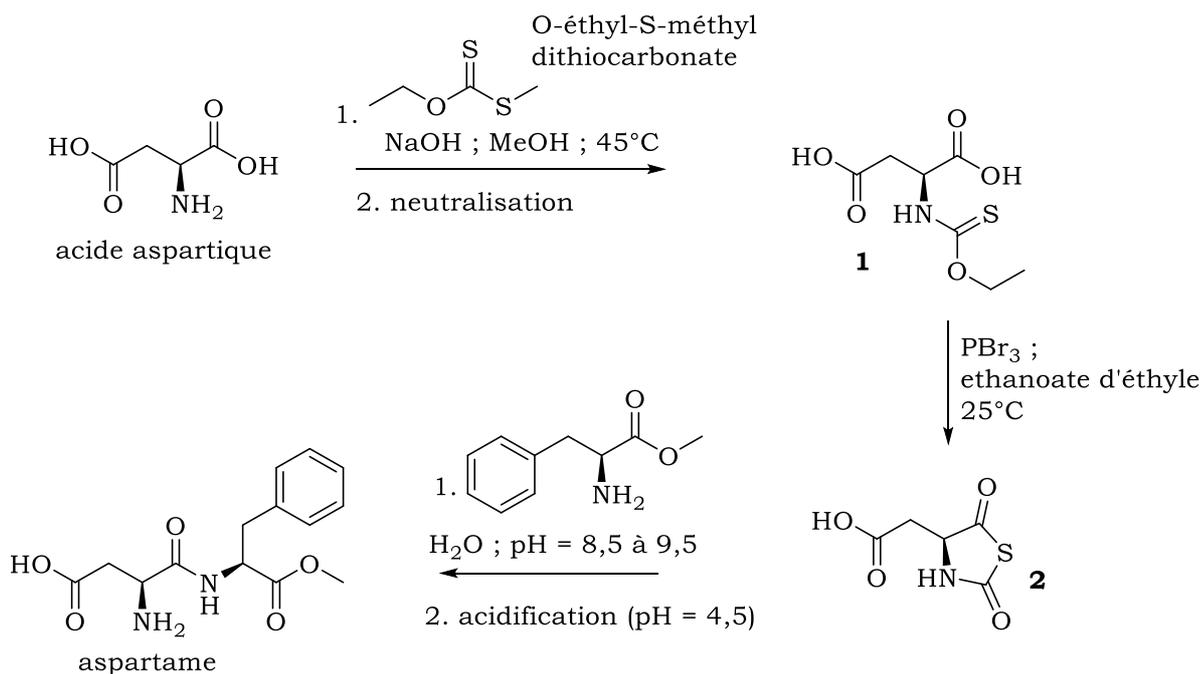
- a. singulet large à 11 ppm, intégration 2 ;
- b. triplet à 3,8 ppm, intégration 1 ;
- c. doublet à 2,7 ppm, intégration 2 ;
- d. singulet très large à environ 2 ppm, intégration 2.

26. Attribuer les signaux observés, et interpréter les déplacements chimiques ainsi que la multiplicité des pics.

### 2. Voie de synthèse à partir de l'acide aspartique

Une synthèse possible de l'aspartame a été proposée par Frederick J. Vinick et Stanley Jung<sup>1</sup> :

<sup>1</sup> Tetrahedron Letters, Vol.23, No.13, pp 1315-1318, 1982



27. La publication précise pour le produit **1** les résultats suivants :

89%; mp  $133^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_D^{25} = +57.1^\circ$  (C=1, THF)

Quelles informations fournissent ces résultats ?

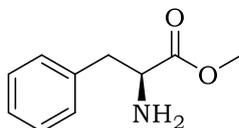
28. En s'inspirant de la réactivité des dérivés d'acide, proposer un mécanisme pour la formation du produit **1**.

29. Déterminer les descripteurs stéréochimiques de l'aspartame, en justifiant.

30. Donner la structure de Lewis du tribromure de phosphore  $\text{PBr}_3$  et préciser la géométrie de cette molécule prédite par la théorie VSEPR.

31. Rappeler la valeur des angles H-C-H dans la molécule de méthane. Dans le tribromure de phosphore, la valeur des angles Br-P-Br est-elle supérieure ou inférieure à cette valeur ?

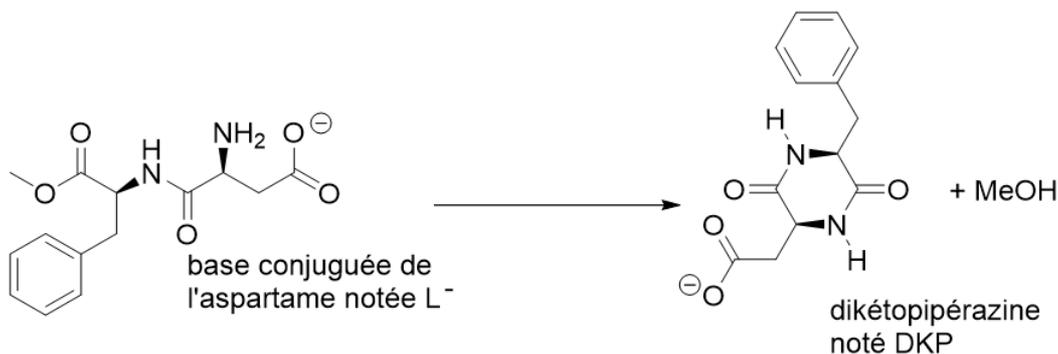
La dernière étape fait intervenir un dérivé de la phénylalanine :



32. Proposer une méthode de synthèse de cette molécule à partir de la phénylalanine.

## V. Suivi cinétique de la dégradation de l'aspartame<sup>2</sup>

En milieu aqueux, à pH neutre ou très légèrement acide, la base conjuguée de l'aspartame se dégrade selon la réaction suivante :

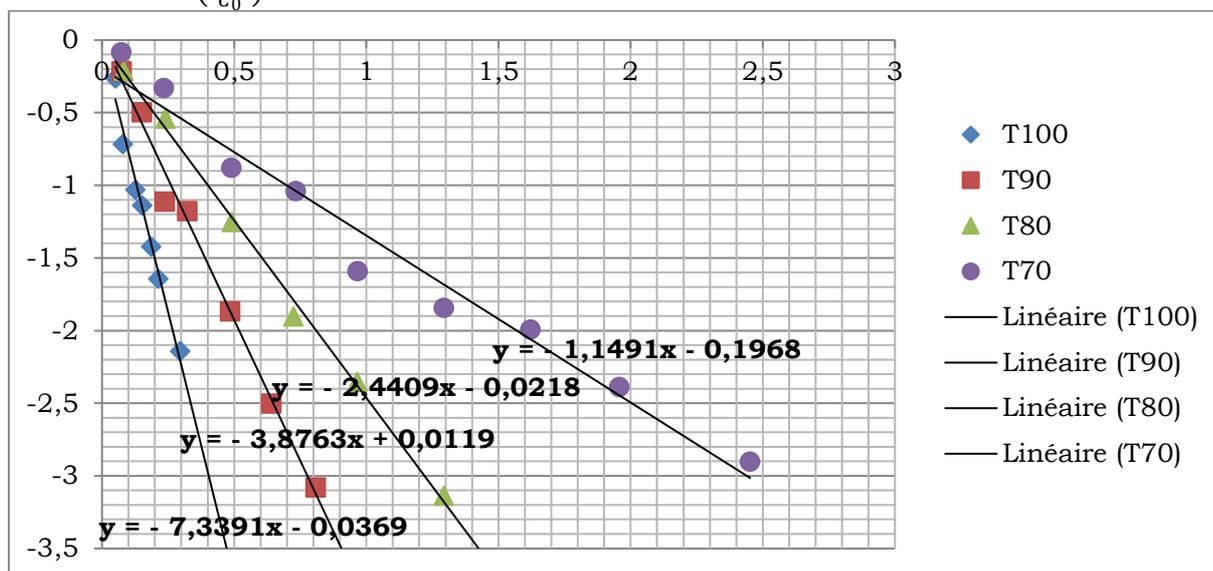


<sup>2</sup> Tsoubeli, Menexia N.; Labuza, Theodore P. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 1671-1675.

33. Proposer un mécanisme pour cette réaction.
34. En faisant l'hypothèse que la réaction est d'ordre 1, déterminer l'expression de la concentration de  $L^-$  à l'instant  $t$  (notée  $[L^-]$ ) en fonction de  $t$ , de la concentration initiale de  $L^-$  (notée  $C_0$ ) et de la constante de vitesse  $k_{obs}$  de la réaction.

La réaction de dégradation de  $L^-$  est conduite dans un tampon phosphate et suivie par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). L'aire du signal obtenu étant proportionnelle à la quantité de  $L^-$  restante, on a aisément accès au rapport  $\frac{[L^-]}{C_0}$ .

Le tracé de  $\ln\left(\frac{[L^-]}{C_0}\right) = f(t)$  est alors réalisé à différentes températures  $T$  (en  $^{\circ}C$ ) :



Tracé de  $\ln\left(\frac{[L^-]}{C_0}\right)$  en fonction du temps (en heures)

35. Déterminer les valeurs des constantes de vitesse aux différentes températures.
36. En déduire la valeur numérique de l'énergie d'activation de la réaction dans ces conditions.
37. Le tampon phosphate dans lequel la réaction est suivie est de concentration  $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$  et de pH valant 7,0. Déterminer la concentration des espèces majoritaires de cette solution tampon.

La publication de Tsubeli et col. reporte les données suivantes :

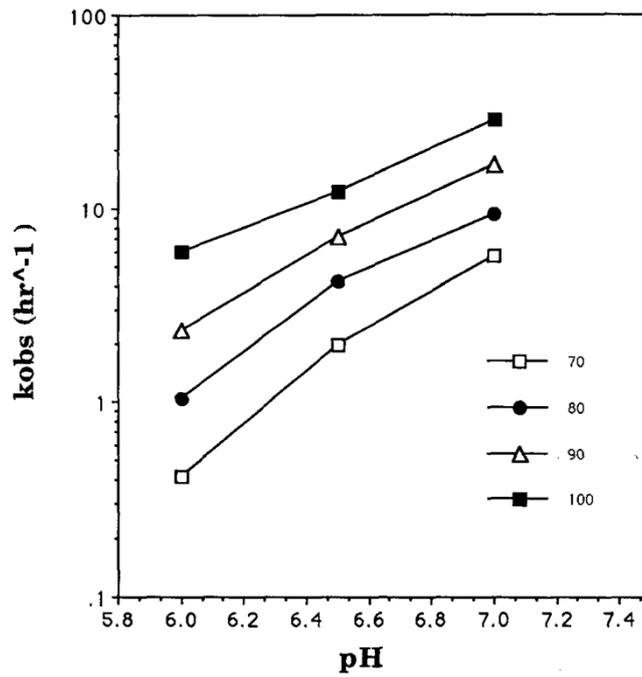


Fig. 3—Rate constant of aspartame degradation as a function of pH (basic range), at 0.1M phosphate buffer at different temperatures.

38. Quel est l'effet du pH sur la vitesse de réaction ? Interpréter ce résultat compte tenu du mécanisme proposé à la question 33.

## ANNEXE 1 : Données de sécurité

Réactifs	Classes de danger
Solution de cuivre (II)	Provoque des lésions oculaires graves/sévère irritation des yeux. Très toxique pour les organismes aquatiques.
Solution d'acide chlorhydrique	Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
Carbonate de sodium	Provoque une sévère irritation des yeux.
Aspartame	Pas de danger
Phénylalanine	Pas de danger
Acide aspartique	Pas de danger
Butan-1-ol	Liquide et vapeurs inflammables. Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Peut irriter les voies respiratoires. Peut provoquer somnolence ou vertiges.
Acide éthanoïque	Liquide et vapeurs inflammables. Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
Ninhydrine	Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. <b>Toxicité spécifique pour certains organes cibles (voies respiratoires)</b>
Solution d'hydroxyde de sodium	Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
Tampon pH = 7 pour étalonnage	Pas de danger
Tampon pH = 4 pour étalonnage	Pas de danger

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

## ANNEXE 2 : Masses molaires et données physico-chimiques à 25°C

Espèce chimique	Formule brute	Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )
Aspartame	$C_{14}H_{18}N_2O_5$	249,3
Acide aspartique	$C_4H_7NO_4$	133,1
Sulfate de cuivre pentahydraté	$CuSO_4, 5H_2O$	249,68
Tartrate double de sodium et de potassium tétrahydraté	$KNaC_4H_4O_6, 4H_2O$	282,22

Solubilité du sulfate de cuivre pentahydraté dans l'eau à 25 °C : 220 g.L<sup>-1</sup>

Constantes de dissociation de complexes de cuivre à 25 °C :

$[CuT]$	$[CuT_2]^{2-}$	$[CuCO_3]$	$[Cu(CO_3)_2]^{2-}$
$pK_{D1}$	$pK_{D2}$	$pK_{D3}$	$pK_{D4}$
=	=	=	=
3,2	5,1	6,7	10,5

Valeurs des  $pK_A$  de quelques couples acide-base

	$pK_{A1}$	$pK_{A2}$	$pK_{A3}$
Acide aspartique	1,9	3,7	9,6
Aspartame	3,2	7,9	
Acide carbonique CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	6,4	10,3	
Acide phosphorique H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2,1	7,2	12,4

# ANNEXE 3 : Classification périodique des éléments

## 6. Classification périodique

**légende**

numéro atomique → 4

nom → **Be**

masse atomique en g . mol<sup>-1</sup> (1) → 9,0

symbole (2) → **Be**

notes : (1) basé sur le <sup>12</sup>C.  
 (2) état physique du corps pur simple à 25°C et 1,013 bar :  
 noir = solide ; rouge = gaz ; vert = liquide ; violet = préparé par synthèse

période	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	1,0 <b>H</b> Hydrogène						
2	2,0 <b>He</b> Hélium	4,0 <b>Li</b> Lithium	6,9 <b>Be</b> Béryllium				
3	3,0 <b>Na</b> Sodium	9,0 <b>Mg</b> Magnésium					
4	11,0 <b>K</b> Potassium	12,0 <b>Ca</b> Calcium	13,0 <b>Sc</b> Scandium	14,0 <b>Ti</b> Titane	15,0 <b>V</b> Vanadium	16,0 <b>Cr</b> Chrome	17,0 <b>Mn</b> Manganèse
5	19,0 <b>Rb</b> Rubidium	20,0 <b>Sr</b> Strontium	21,0 <b>Y</b> Yttrium	22,0 <b>Zr</b> Zirconium	23,0 <b>Nb</b> Niobium	24,0 <b>Mo</b> Molibdène	25,0 <b>Tc</b> Technétium
6	55,0 <b>Cs</b> Césium	56,0 <b>Ba</b> Baryum	57,0 <b>La</b> Lanthane	72,0 <b>Hf</b> Hafnium	73,0 <b>Ta</b> Tantale	74,0 <b>W</b> Tungstène	75,0 <b>Re</b> Rhenium
7	87,0 <b>Fr</b> Francium	88,0 <b>Ra</b> Radium	89,0 <b>Ac</b> Actinium	108,0 <b>Pb</b> Plomb	109,0 <b>Bi</b> Bismuth	110,0 <b>Po</b> Polonium	111,0 <b>At</b> Astate
8	101,0 <b>Na</b> Sodium	102,0 <b>Mg</b> Magnésium	103,0 <b>Al</b> Aluminium	104,0 <b>Si</b> Silicium	105,0 <b>P</b> Phosphore	106,0 <b>S</b> Soufre	107,0 <b>Cl</b> Chlore
9	115,0 <b>Sb</b> Antimoine	116,0 <b>Te</b> Tellure	117,0 <b>I</b> Iode	118,0 <b>Xe</b> Xénon	119,0 <b>At</b> Astate	120,0 <b>Rn</b> Radon	
10	132,0 <b>Pb</b> Plomb	133,0 <b>Bi</b> Bismuth	134,0 <b>Po</b> Polonium	135,0 <b>At</b> Astate	136,0 <b>Rn</b> Radon		
11	150,0 <b>Er</b> Erbium	151,0 <b>Tm</b> Thulium	152,0 <b>Yb</b> Ytterbium	153,0 <b>Lu</b> Lutétium			
12	167,0 <b>Ho</b> Holmium	168,0 <b>Er</b> Erbium	169,0 <b>Tm</b> Thulium	170,0 <b>Yb</b> Ytterbium	171,0 <b>Lu</b> Lutétium		
13	187,0 <b>Os</b> Osmium	188,0 <b>Ir</b> Iridium	189,0 <b>Pt</b> Platine	190,0 <b>Au</b> Or	191,0 <b>Hg</b> Mercure		
14	208,0 <b>Pb</b> Plomb	209,0 <b>Bi</b> Bismuth	210,0 <b>Po</b> Polonium	211,0 <b>At</b> Astate	212,0 <b>Rn</b> Radon		
15	223,0 <b>Fr</b> Francium	224,0 <b>Ra</b> Radium	225,0 <b>Ac</b> Actinium	226,0 <b>Pb</b> Plomb	227,0 <b>Bi</b> Bismuth	228,0 <b>Po</b> Polonium	229,0 <b>At</b> Astate
16	238,0 <b>Th</b> Thorium	239,0 <b>Pa</b> Protactinium	240,0 <b>U</b> Uranium	241,0 <b>Np</b> Neptunium	242,0 <b>Pu</b> Plutonium	243,0 <b>Am</b> Américium	244,0 <b>Cm</b> Curium
17	252,0 <b>U</b> Uranium	253,0 <b>Np</b> Neptunium	254,0 <b>Pu</b> Plutonium	255,0 <b>Am</b> Américium	256,0 <b>Cm</b> Curium	257,0 <b>Bk</b> Berkélium	258,0 <b>Cf</b> Californium
18	267,0 <b>Lu</b> Lutétium	268,0 <b>Hf</b> Hafnium	269,0 <b>Ta</b> Tantale	270,0 <b>W</b> Tungstène	271,0 <b>Re</b> Rhenium	272,0 <b>Os</b> Osmium	273,0 <b>Ir</b> Iridium
19	287,0 <b>Lu</b> Lutétium	288,0 <b>Hf</b> Hafnium	289,0 <b>Ta</b> Tantale	290,0 <b>W</b> Tungstène	291,0 <b>Re</b> Rhenium	292,0 <b>Os</b> Osmium	293,0 <b>Ir</b> Iridium
20	303,0 <b>Lu</b> Lutétium	304,0 <b>Hf</b> Hafnium	305,0 <b>Ta</b> Tantale	306,0 <b>W</b> Tungstène	307,0 <b>Re</b> Rhenium	308,0 <b>Os</b> Osmium	309,0 <b>Ir</b> Iridium
21	312,0 <b>Lu</b> Lutétium	313,0 <b>Hf</b> Hafnium	314,0 <b>Ta</b> Tantale	315,0 <b>W</b> Tungstène	316,0 <b>Re</b> Rhenium	317,0 <b>Os</b> Osmium	318,0 <b>Ir</b> Iridium
22	320,0 <b>Lu</b> Lutétium	321,0 <b>Hf</b> Hafnium	322,0 <b>Ta</b> Tantale	323,0 <b>W</b> Tungstène	324,0 <b>Re</b> Rhenium	325,0 <b>Os</b> Osmium	326,0 <b>Ir</b> Iridium
23	329,0 <b>Lu</b> Lutétium	330,0 <b>Hf</b> Hafnium	331,0 <b>Ta</b> Tantale	332,0 <b>W</b> Tungstène	333,0 <b>Re</b> Rhenium	334,0 <b>Os</b> Osmium	335,0 <b>Ir</b> Iridium
24	338,0 <b>Lu</b> Lutétium	339,0 <b>Hf</b> Hafnium	340,0 <b>Ta</b> Tantale	341,0 <b>W</b> Tungstène	342,0 <b>Re</b> Rhenium	343,0 <b>Os</b> Osmium	344,0 <b>Ir</b> Iridium
25	347,0 <b>Lu</b> Lutétium	348,0 <b>Hf</b> Hafnium	349,0 <b>Ta</b> Tantale	350,0 <b>W</b> Tungstène	351,0 <b>Re</b> Rhenium	352,0 <b>Os</b> Osmium	353,0 <b>Ir</b> Iridium
26	356,0 <b>Lu</b> Lutétium	357,0 <b>Hf</b> Hafnium	358,0 <b>Ta</b> Tantale	359,0 <b>W</b> Tungstène	360,0 <b>Re</b> Rhenium	361,0 <b>Os</b> Osmium	362,0 <b>Ir</b> Iridium
27	365,0 <b>Lu</b> Lutétium	366,0 <b>Hf</b> Hafnium	367,0 <b>Ta</b> Tantale	368,0 <b>W</b> Tungstène	369,0 <b>Re</b> Rhenium	370,0 <b>Os</b> Osmium	371,0 <b>Ir</b> Iridium
28	374,0 <b>Lu</b> Lutétium	375,0 <b>Hf</b> Hafnium	376,0 <b>Ta</b> Tantale	377,0 <b>W</b> Tungstène	378,0 <b>Re</b> Rhenium	379,0 <b>Os</b> Osmium	380,0 <b>Ir</b> Iridium
29	383,0 <b>Lu</b> Lutétium	384,0 <b>Hf</b> Hafnium	385,0 <b>Ta</b> Tantale	386,0 <b>W</b> Tungstène	387,0 <b>Re</b> Rhenium	388,0 <b>Os</b> Osmium	389,0 <b>Ir</b> Iridium
30	392,0 <b>Lu</b> Lutétium	393,0 <b>Hf</b> Hafnium	394,0 <b>Ta</b> Tantale	395,0 <b>W</b> Tungstène	396,0 <b>Re</b> Rhenium	397,0 <b>Os</b> Osmium	398,0 <b>Ir</b> Iridium
31	401,0 <b>Lu</b> Lutétium	402,0 <b>Hf</b> Hafnium	403,0 <b>Ta</b> Tantale	404,0 <b>W</b> Tungstène	405,0 <b>Re</b> Rhenium	406,0 <b>Os</b> Osmium	407,0 <b>Ir</b> Iridium
32	410,0 <b>Lu</b> Lutétium	411,0 <b>Hf</b> Hafnium	412,0 <b>Ta</b> Tantale	413,0 <b>W</b> Tungstène	414,0 <b>Re</b> Rhenium	415,0 <b>Os</b> Osmium	416,0 <b>Ir</b> Iridium
33	419,0 <b>Lu</b> Lutétium	420,0 <b>Hf</b> Hafnium	421,0 <b>Ta</b> Tantale	422,0 <b>W</b> Tungstène	423,0 <b>Re</b> Rhenium	424,0 <b>Os</b> Osmium	425,0 <b>Ir</b> Iridium
34	428,0 <b>Lu</b> Lutétium	429,0 <b>Hf</b> Hafnium	430,0 <b>Ta</b> Tantale	431,0 <b>W</b> Tungstène	432,0 <b>Re</b> Rhenium	433,0 <b>Os</b> Osmium	434,0 <b>Ir</b> Iridium
35	437,0 <b>Lu</b> Lutétium	438,0 <b>Hf</b> Hafnium	439,0 <b>Ta</b> Tantale	440,0 <b>W</b> Tungstène	441,0 <b>Re</b> Rhenium	442,0 <b>Os</b> Osmium	443,0 <b>Ir</b> Iridium
36	446,0 <b>Lu</b> Lutétium	447,0 <b>Hf</b> Hafnium	448,0 <b>Ta</b> Tantale	449,0 <b>W</b> Tungstène	450,0 <b>Re</b> Rhenium	451,0 <b>Os</b> Osmium	452,0 <b>Ir</b> Iridium
37	455,0 <b>Lu</b> Lutétium	456,0 <b>Hf</b> Hafnium	457,0 <b>Ta</b> Tantale	458,0 <b>W</b> Tungstène	459,0 <b>Re</b> Rhenium	460,0 <b>Os</b> Osmium	461,0 <b>Ir</b> Iridium
38	464,0 <b>Lu</b> Lutétium	465,0 <b>Hf</b> Hafnium	466,0 <b>Ta</b> Tantale	467,0 <b>W</b> Tungstène	468,0 <b>Re</b> Rhenium	469,0 <b>Os</b> Osmium	470,0 <b>Ir</b> Iridium
39	473,0 <b>Lu</b> Lutétium	474,0 <b>Hf</b> Hafnium	475,0 <b>Ta</b> Tantale	476,0 <b>W</b> Tungstène	477,0 <b>Re</b> Rhenium	478,0 <b>Os</b> Osmium	479,0 <b>Ir</b> Iridium
40	482,0 <b>Lu</b> Lutétium	483,0 <b>Hf</b> Hafnium	484,0 <b>Ta</b> Tantale	485,0 <b>W</b> Tungstène	486,0 <b>Re</b> Rhenium	487,0 <b>Os</b> Osmium	488,0 <b>Ir</b> Iridium
41	491,0 <b>Lu</b> Lutétium	492,0 <b>Hf</b> Hafnium	493,0 <b>Ta</b> Tantale	494,0 <b>W</b> Tungstène	495,0 <b>Re</b> Rhenium	496,0 <b>Os</b> Osmium	497,0 <b>Ir</b> Iridium
42	500,0 <b>Lu</b> Lutétium	501,0 <b>Hf</b> Hafnium	502,0 <b>Ta</b> Tantale	503,0 <b>W</b> Tungstène	504,0 <b>Re</b> Rhenium	505,0 <b>Os</b> Osmium	506,0 <b>Ir</b> Iridium
43	509,0 <b>Lu</b> Lutétium	510,0 <b>Hf</b> Hafnium	511,0 <b>Ta</b> Tantale	512,0 <b>W</b> Tungstène	513,0 <b>Re</b> Rhenium	514,0 <b>Os</b> Osmium	515,0 <b>Ir</b> Iridium
44	518,0 <b>Lu</b> Lutétium	519,0 <b>Hf</b> Hafnium	520,0 <b>Ta</b> Tantale	521,0 <b>W</b> Tungstène	522,0 <b>Re</b> Rhenium	523,0 <b>Os</b> Osmium	524,0 <b>Ir</b> Iridium
45	527,0 <b>Lu</b> Lutétium	528,0 <b>Hf</b> Hafnium	529,0 <b>Ta</b> Tantale	530,0 <b>W</b> Tungstène	531,0 <b>Re</b> Rhenium	532,0 <b>Os</b> Osmium	533,0 <b>Ir</b> Iridium
46	536,0 <b>Lu</b> Lutétium	537,0 <b>Hf</b> Hafnium	538,0 <b>Ta</b> Tantale	539,0 <b>W</b> Tungstène	540,0 <b>Re</b> Rhenium	541,0 <b>Os</b> Osmium	542,0 <b>Ir</b> Iridium
47	545,0 <b>Lu</b> Lutétium	546,0 <b>Hf</b> Hafnium	547,0 <b>Ta</b> Tantale	548,0 <b>W</b> Tungstène	549,0 <b>Re</b> Rhenium	550,0 <b>Os</b> Osmium	551,0 <b>Ir</b> Iridium
48	554,0 <b>Lu</b> Lutétium	555,0 <b>Hf</b> Hafnium	556,0 <b>Ta</b> Tantale	557,0 <b>W</b> Tungstène	558,0 <b>Re</b> Rhenium	559,0 <b>Os</b> Osmium	560,0 <b>Ir</b> Iridium
49	563,0 <b>Lu</b> Lutétium	564,0 <b>Hf</b> Hafnium	565,0 <b>Ta</b> Tantale	566,0 <b>W</b> Tungstène	567,0 <b>Re</b> Rhenium	568,0 <b>Os</b> Osmium	569,0 <b>Ir</b> Iridium
50	572,0 <b>Lu</b> Lutétium	573,0 <b>Hf</b> Hafnium	574,0 <b>Ta</b> Tantale	575,0 <b>W</b> Tungstène	576,0 <b>Re</b> Rhenium	577,0 <b>Os</b> Osmium	578,0 <b>Ir</b> Iridium
51	581,0 <b>Lu</b> Lutétium	582,0 <b>Hf</b> Hafnium	583,0 <b>Ta</b> Tantale	584,0 <b>W</b> Tungstène	585,0 <b>Re</b> Rhenium	586,0 <b>Os</b> Osmium	587,0 <b>Ir</b> Iridium
52	590,0 <b>Lu</b> Lutétium	591,0 <b>Hf</b> Hafnium	592,0 <b>Ta</b> Tantale	593,0 <b>W</b> Tungstène	594,0 <b>Re</b> Rhenium	595,0 <b>Os</b> Osmium	596,0 <b>Ir</b> Iridium
53	599,0 <b>Lu</b> Lutétium	600,0 <b>Hf</b> Hafnium	601,0 <b>Ta</b> Tantale	602,0 <b>W</b> Tungstène	603,0 <b>Re</b> Rhenium	604,0 <b>Os</b> Osmium	605,0 <b>Ir</b> Iridium
54	608,0 <b>Lu</b> Lutétium	609,0 <b>Hf</b> Hafnium	610,0 <b>Ta</b> Tantale	611,0 <b>W</b> Tungstène	612,0 <b>Re</b> Rhenium	613,0 <b>Os</b> Osmium	614,0 <b>Ir</b> Iridium
55	617,0 <b>Lu</b> Lutétium	618,0 <b>Hf</b> Hafnium	619,0 <b>Ta</b> Tantale	620,0 <b>W</b> Tungstène	621,0 <b>Re</b> Rhenium	622,0 <b>Os</b> Osmium	623,0 <b>Ir</b> Iridium
56	626,0 <b>Lu</b> Lutétium	627,0 <b>Hf</b> Hafnium	628,0 <b>Ta</b> Tantale	629,0 <b>W</b> Tungstène	630,0 <b>Re</b> Rhenium	631,0 <b>Os</b> Osmium	632,0 <b>Ir</b> Iridium
57	635,0 <b>Lu</b> Lutétium	636,0 <b>Hf</b> Hafnium	637,0 <b>Ta</b> Tantale	638,0 <b>W</b> Tungstène	639,0 <b>Re</b> Rhenium	640,0 <b>Os</b> Osmium	641,0 <b>Ir</b> Iridium
58	644,0 <b>Lu</b> Lutétium	645,0 <b>Hf</b> Hafnium	646,0 <b>Ta</b> Tantale	647,0 <b>W</b> Tungstène	648,0 <b>Re</b> Rhenium	649,0 <b>Os</b> Osmium	650,0 <b>Ir</b> Iridium
59	653,0 <b>Lu</b> Lutétium	654,0 <b>Hf</b> Hafnium	655,0 <b>Ta</b> Tantale	656,0 <b>W</b> Tungstène	657,0 <b>Re</b> Rhenium	658,0 <b>Os</b> Osmium	659,0 <b>Ir</b> Iridium
60	662,0 <b>Lu</b> Lutétium	663,0 <b>Hf</b> Hafnium	664,0 <b>Ta</b> Tantale	665,0 <b>W</b> Tungstène	666,0 <b>Re</b> Rhenium	667,0 <b>Os</b> Osmium	668,0 <b>Ir</b> Iridium
61	671,0 <b>Lu</b> Lutétium	672,0 <b>Hf</b> Hafnium	673,0 <b>Ta</b> Tantale	674,0 <b>W</b> Tungstène	675,0 <b>Re</b> Rhenium	676,0 <b>Os</b> Osmium	677,0 <b>Ir</b> Iridium
62	680,0 <b>Lu</b> Lutétium	681,0 <b>Hf</b> Hafnium	682,0 <b>Ta</b> Tantale	683,0 <b>W</b> Tungstène	684,0 <b>Re</b> Rhenium	685,0 <b>Os</b> Osmium	686,0 <b>Ir</b> Iridium
63	689,0 <b>Lu</b> Lutétium	690,0 <b>Hf</b> Hafnium	691,0 <b>Ta</b> Tantale	692,0 <b>W</b> Tungstène	693,0 <b>Re</b> Rhenium	694,0 <b>Os</b> Osmium	695,0 <b>Ir</b> Iridium
64	698,0 <b>Lu</b> Lutétium	699,0 <b>Hf</b> Hafnium	700,0 <b>Ta</b> Tantale	701,0 <b>W</b> Tungstène	702,0 <b>Re</b> Rhenium	703,0 <b>Os</b> Osmium	704,0 <b>Ir</b> Iridium
65	707,0 <b>Lu</b> Lutétium	708,0 <b>Hf</b> Hafnium	709,0 <b>Ta</b> Tantale	710,0 <b>W</b> Tungstène	711,0 <b>Re</b> Rhenium	712,0 <b>Os</b> Osmium	713,0 <b>Ir</b> Iridium
66	716,0 <b>Lu</b> Lutétium	717,0 <b>Hf</b> Hafnium	718,0 <b>Ta</b> Tantale	719,0 <b>W</b> Tungstène	720,0 <b>Re</b> Rhenium	721,0 <b>Os</b> Osmium	722,0 <b>Ir</b> Iridium
67	725,0 <b>Lu</b> Lutétium	726,0 <b>Hf</b> Hafnium	727,0 <b>Ta</b> Tantale	728,0 <b>W</b> Tungstène	729,0 <b>Re</b> Rhenium	730,0 <b>Os</b> Osmium	731,0 <b>Ir</b> Iridium
68	734,0 <b>Lu</b> Lutétium	735,0 <b>Hf</b> Hafnium	736,0 <b>Ta</b> Tantale	737,0 <b>W</b> Tungstène	738,0 <b>Re</b> Rhenium	739,0 <b>Os</b> Osm	

## ANNEXE 4 : table de déplacements chimiques en RMN <sup>1</sup>H

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

Document-réponse à rendre avec la copie  
n° poste :

## I. Détermination de la quantité d'aspartame dans une sucrette

### 2. Droite d'étalonnage

Question 6. Calcul des valeurs de concentrations :

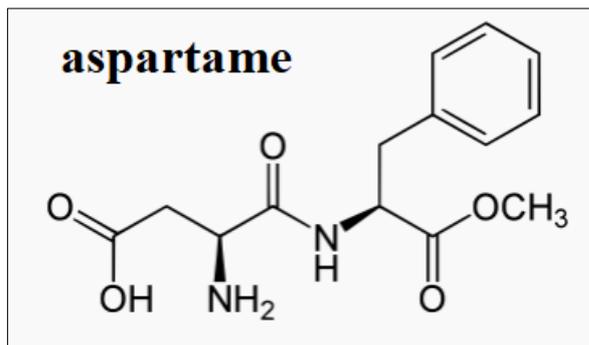
V (mL)	0	2,5	5,0	7,5	10,0
$C_{[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}}$ en mmol.L <sup>-1</sup>					
$C_{[\text{CuL}(\text{CO}_3)]}$ en mmol.L <sup>-1</sup>					
$A_{640}$	0,3310	0,4829	0,6377	0,7848	0,9313

## 3. Détermination du pourcentage massique d'aspartame dans une sucrette

Question 9. Mesure de l'absorbance :

## II. Hydrolyse de l'aspartame et analyse par CCM

Question 12. Fonctions chimiques de l'aspartame



Question 15. Chromatogramme révélé :

## RAPPORT DU JURY DE TP DE CHIMIE

### Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,34 / 20**
- Meilleure note : **17,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,70 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **12,04 / 20**

L'épreuve de travaux pratiques de chimie de cette année s'intéresse à l'aspartame.

Le sujet se compose de trois parties expérimentales autour de l'aspartame, ainsi que d'une étude théorique de la synthèse et de la réactivité de l'aspartame, de données spectroscopiques et d'une étude cinétique.

Les compétences expérimentales apparaissent dans les trois premières parties du sujet :

- Partie I. Dosage spectrophotométrique :

Pesée, filtration par gravité, mesure d'une absorbance à une longueur d'onde donnée à l'aide d'un spectrophotomètre.

- Partie II. Hydrolyse de l'aspartame et caractérisation :

Montage à reflux avec réfrigérant à air, réalisation d'une chromatographie sur couche mince sur gel de silice.

- Partie III. Titrage de l'acide aspartique :

Pesée, titrage pH-métrique.

Ces questions à caractère expérimental sont précédées ou suivies de questions dont le but est l'analyse, la modélisation et l'exploitation des données obtenues.

Les parties IV et V du sujet concernent l'étude de la synthèse de l'aspartame et le suivi cinétique de la dégradation de l'aspartame.

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

Le soin apporté aux copies est inégal, notamment en ce qui concerne la rédaction ; le jury rappelle qu'une copie de concours ne peut se résumer à un cahier de laboratoire ou à une succession de réponses sans justification. En particulier, les applications numériques demandées doivent être précédés de calculs littéraux soignés. En outre, le jury rappelle également que l'épreuve demande une bonne gestion du temps et une bonne organisation.

### *Remarques concernant les compétences expérimentales*

Le port des lunettes de sécurité est requis pendant **toute** la durée de l'épreuve et les candidats et candidates doivent manipuler debout. De plus, l'usage des gants doit être raisonné.

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

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

- **Partie I. Dosage spectrophotométrique :**

Réalisation d'une solution par dissolution : une fiole jaugée doit être remplie en deux fois avec une homogénéisation intermédiaire.

Mesure d'une absorbance à une longueur d'onde donnée à l'aide d'un spectrophotomètre : on attendait la mesure de l'absorbance d'une seule solution et non de toutes les solutions disponibles. La mesure d'une valeur négative d'absorbance aurait dû faire s'interroger les candidats et candidates. En outre, les cuves doivent être suffisamment remplies afin d'éviter les erreurs de mesure.

- **Partie II. Hydrolyse de l'aspartame et caractérisation :**

Montage à reflux avec réfrigérant à air : il était attendu de sécuriser correctement le montage à l'aide de pinces et d'un support élévateur en position haute.

Réalisation d'une chromatographie sur couche mince sur gel de silice : il est rappelé que la couche de silice ne doit pas être endommagée. La plaque CCM doit également être annotée.

- **Partie III. Titrage de l'acide aspartique :**

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

*Remarque concernant les compétences numériques*

Le tracé du graphique n'a pas posé de problème en général.

En raison d'un événement indépendant de la volonté du jury, les parties IV et V du sujet n'ont pas été traitées.

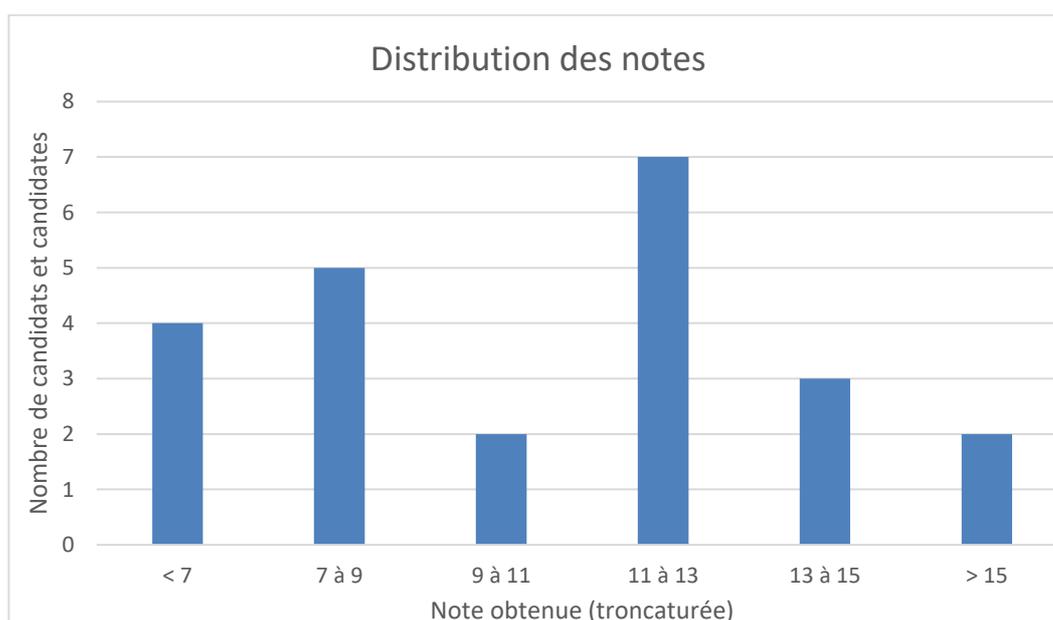
## **Distribution des notes des candidats et candidates ayant passé l'épreuve**

:

**Moyenne : 10,34/20**

**Médiane : 10/20**

**Ecart type : 3,40**





# ÉPREUVE ORALE DE LEÇON

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

## SUJETS

BIOCHIMIE	BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE	MICROBIOLOGIE
Les vitamines du groupe B	Adaptations physiologiques à la gestation	La mobilité chez les microorganismes
La technologie CRISPR-Cas9	La contraction musculaire	Alternatives à l'antibiothérapie
Les acides aminés non protéinogènes	La régulation de la volémie	L'étude des infections par la loupe de l'épidémiologie
Structure et métabolisme de l'amidon	La circulation sanguine	Les pathogènes neurotropes
Les protéines de choc thermique	L'axe somatotrope	<i>Escherichia coli</i>
L'effet Warburg et l'effet Pasteur	La transmission synaptique	Maladies vectorielles transmises par des insectes vecteurs
NADH,H <sup>+</sup> /NAD <sup>+</sup> et NADPH,H <sup>+</sup> /NADP <sup>+</sup>	L'inflammation	Variation antigénique chez les microorganismes
L'ATP synthase		Mécanismes de défense contre les pathogènes : rôle clé des cellules dendritiques

## RAPPORT DU JURY DE LEÇONS

### **Statistiques des résultats de l'épreuve**

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

### **Commentaires généraux**

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

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

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

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

### **Remarques sur la présentation**

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

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

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

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

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

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

Rappelons aussi que doivent figurer sur les diapositives numérotées, les illustrations supportant le propos et un texte de longueur raisonnable permettant au candidat de présenter des notions et concepts qu'il souhaite développer dans sa leçon. Des diapositives support d'un texte lu dans son intégralité ne montre pas les compétences pédagogiques du candidat et ne permettent pas au le candidat d'adopter une réelle posture communicante avec l'auditoire, base de la pédagogie. 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 relevé de 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 comme doit le faire un enseignant pour capter l'attention dans sa classe ou un chercheur présentant ses travaux pour intéresser son auditoire.

### **Remarques sur l'entretien**

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

- d'éclaircir, d'approfondir et de compléter certains points présentés lors de l'exposé;
- d'élargir le sujet dans des domaines connexes ou non abordés.
- de répondre à des questions spécifiques aux champs disciplinaires 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 et du vocabulaire technologique que de la pratique de la langue française. L'utilisation de la terminologie précise et pertinente conduit en effet à vérifier la compréhension des concepts exposés par le candidat

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 et maîtriser des concepts 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, avec certains candidats l'échange n'a pas été véritablement possible car ils ont eu des difficultés à adopter une posture réflexive ou parce qu'ils ont formulé des réponses trop laconiques. Il n'est cependant pas conseillé aux candidats d'étendre exagérément leur temps de réponse afin de réduire le nombre de questions posées : le jury n'est pas dupe et chaque membre du jury doit avoir le temps de poser quelques questions.

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

## **Rapport sur les leçons de Biochimie**

Huit leçons de biochimie ont été proposées pour cet opus 2024 de l'agrégation externe BGB

Les candidats disposaient d'une durée de 4 heures pour préparer chacune des leçons. Pour bien démarrer, il s'agissait pour eux de bien sélectionner les ouvrages sur lesquels ils s'appuieraient, nul besoin de s'encombrer de sources inutiles, il peut suffire de 2 ou 3 livres récents et bien illustrés pour faire de sa prestation une bonne leçon.

Chaque candidat disposait de 40 min pour exposer le sujet. Il était important de bien utiliser le matériel mis à disposition même si celui-ci est relativement basique : le tableau et les craies (il s'agit d'une leçon et pas d'une conférence orale) et le vidéoprojecteur. La leçon doit démarrer par la présentation d'un plan détaillé, qui peut être en trois parties principales avec titres et sous-titres. De sorte à éviter les hors-sujets il est indispensable d'identifier les concepts majeurs à l'aide des mots-clés autour desquels s'articulera la leçon. Le débit de paroles doit être régulier, ni trop rapide ni trop lent, et il faut veiller à s'exprimer clairement et de sorte à ce que n'importe qui dans l'audience quelque-soit sa place entende intelligiblement. Il faut également veiller à ne pas lire avec trop d'insistance ses notes (un enseignant doit montrer qu'il maîtrise son sujet) même si rien n'empêche les candidats de s'y référer de temps à autre pour s'assurer de ne rien oublier ou pour éviter toute confusion, personne n'est à l'abri d'une erreur. Il faut également ne pas noyer son propos par des

illustrations inutiles, comme pour le choix des ouvrages, mieux vaut faire un tri sélectif et présenter des schémas et figures qui éclairent l'auditoire sans les perdre dans des détails et informations inutiles : il peut être compliqué de suivre un schéma projeté complexe tout en se concentrant sur l'exposé oral, généralement dépassé un certain temps de leçon, on ne suit plus que l'un ou l'autre. Les candidats doivent regarder les personnes de l'auditoire, leur parler, tout en se déplaçant et si possible ne pas rester figer devant l'écran de projection ou le tableau. Il faut éviter de fixer une seule personne, ce qui peut à la longue être déroutant pour le membre du jury ou l'élève, ou à l'inverse de rester le nez dans ses notes.

Concernant la phase d'échange avec les membres du jury d'une durée de 20 min, il est fondamental de ne pas se relâcher, l'exercice n'est pas terminé. Il est important de bien écouter et de réfléchir à la question posée avant de répondre, rien n'empêche de prendre quelques secondes avant de formuler un début de réponse plutôt que de se précipiter et de répondre à côté de la question. En cas de doute ou d'absence de réponse mieux vaut dire qu'on ne sait pas plutôt que de partir dans de longs monologues n'ayant pour objectif que de masquer son ignorance, on ne peut pas tout savoir sur tous les sujets, enseigner c'est apprendre toute la vie. Les réponses doivent être courtes et directes sans verbiage inutile ; plus les candidats répondent correctement à un nombre important de questions, meilleure est l'impression du jury qui considère que le candidat maîtrise le sujet. Ne jamais se départir de son sourire et bien évidemment ne pas donner l'impression aux membres du jury que la question n'a pas d'intérêt ou, pire, est idiote.

A la fin de l'exercice, les candidats ne doivent pas être surpris si le jury n'exprime rien, celui-ci ne peut rien laisser transparaître de son appréciation de la qualité de la prestation par souci d'équité et parce que tant que le concours n'est pas terminé, rien n'est joué.

## **Rapport sur les leçons de Microbiologie**

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

Les sujets proposés en 2024 étaient classiques et sans difficulté majeure pour les candidats ayant préparé l'épreuve de microbiologie de façon intégrée, comme mentionné ci-dessus. Il était donc important de bien définir le sujet en introduction, de le replacer dans le contexte, afin d'en définir les contours, la problématique, puis de traiter chacune des parties de façon intégrée et sans oublier de s'appuyer sur des données expérimentales moléculaires et cellulaires, avant de conclure et d'élargir le sujet. Il est important de mentionner que la microbiologie est généralement richement illustrée dans les livres mis à disposition et il est donc important d'illustrer, autant que possible, par des schémas, des tableaux ou des photos (de bonne qualité) les démonstrations expérimentales et les concepts mentionnés.

Certains candidats ont excellé dans l'exercice proposé, avec un exposé dynamique, captivant, original, richement illustré : ils ont tout simplement charmé leur auditoire, bravo ! D'autres se sont contentés d'un exposé plus conventionnel pouvant cependant faire la preuve d'une maîtrise de certaines autres compétences visées.

## **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 « L'axe somatotrope ») impose aux candidats  
**Agrégation externe Biochimie Génie Biologique 2024 – RAPPORT DE JURY** **Page 79 / 92**

de proposer un plan construit sur des concepts clés, incontournables, plutôt que de rechercher une exhaustivité dans les notions.

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

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

Dans certains cas, le jury a regretté l'absence de traitement de parties importantes de certaines leçons comme par exemple lors de la leçon « les adaptations physiologiques à la gestation ». Le jury attendait une description claire et précise, selon les stades de la gestation, des adaptations métaboliques, vasculaires, endocrines et des conséquences potentielles sur le fœtus suite aux désordres adaptatifs maternels.

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

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

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

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

## SUJETS

<b>Toxines et transport !</b>	Nicole J. Yang, Jörg Isensee <i>et al.</i> <b>Anthrax toxins regulate pain signaling and can deliver molecular cargoes into ANTXR2+ DRG sensory neurons</b> <i>Nature Neuroscience</i> , 2022, vol.25 , p. 168–179
	Mahtab Moayeri, Stephen H. Leppla <b>Anthrax Pathogenesis</b> <i>Annual Review of Microbiology</i> , 2015, vol.69, p. 185–208
<b>Respirer les anticorps !</b>	Cheng Li, Wuqiang Zhan <i>et al.</i> <b>Broad neutralization of SARS-CoV-2 variants by an inhalable bispecific single-domain antibody</b> <i>Cell</i> , 2022, vol.185, p. 1389–1401
	Anthony James Hickey, Ian Edward Stewart <b>Inhaled antibodies: Quality and performance considerations</b> <i>Human Vaccines and Immunotherapeutics</i> , 2022, Vol. 18, e1940650 (10 pages)
<b>Quand les Aptamères obtempèrent !</b>	Wenjing Liu, Yuanyu Huang <i>et al.</i> <b>Multivalent Engineering of Exosomes with Activatable Aptamer Probes for Specific Regulation and Monitoring of Cell Targeting</b> <i>Analytical Chemistry</i> . 2022, vol. 94, p. 3840–3848
	Shin-ichiro Hori, Alberto Herrera <i>et al.</i> <b>Current Advances in Aptamers for Cancer Diagnosis and Therapy</b> <i>Cancers</i> , 2018, vol. 10,9, p. 1-33
<b>Espionnage cellulaire !</b>	In-Young Jung, Estela Noguera-Ortega <i>et al.</i> <b>Tissue-resident memory CAR T cells with stem-like characteristics display enhanced efficacy against solid and liquid tumors</b> <i>Cell Reports Medicine</i> , 2023, vol.4, 101053, p. 1-18

	Robert C. Sterner and Rosalie M. Sterner <b>CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies</b> <i>Blood Cancer Journal</i> , 2021, vol. 11:69, p. 1-11
Tuner les anticorps !	Xiaojie Yu , Christian M. Orr <i>et al.</i> <b>Reducing affinity as a strategy to boost immunomodulatory antibody agonism</b> <i>Nature</i> , 2023, vol. 614, p. 539-547
	Cosby A. Stone, Jr, Benjamin W. Spiller, Scott A. Smith <b>Engineering therapeutic monoclonal antibodies</b> <i>Journal of Allergy and Clinical Immunology</i> , 2024, vol. 153, 3, p.539-548
Dégradation surfacique !!	Rui Sun, Zibo Meng <i>et al.</i> <b>ROTACs leverage signaling-incompetent R-spondin for targeted protein degradation</b> <i>Cell Chemical Biology</i> , 2023, vol. 30, p. 739–752
	Ming Yi, Xiaoli Zheng <i>et al.</i> <b>Combination strategies with PD-1/PDL1 blockade: current advances and future directions</b> <i>Molecular Cancer</i> , 2022, vol. 21:28, p. 1-27
Muter pour mieux s'échapper !	Xiaoyuan Lin, Zhou Sha <i>et al.</i> <b>NSP4 T492I mutation increases SARS-CoV-2 infectivity by altering non-structural protein cleavage</b> <i>Cell Host &amp; Microbe</i> , 2023, vol. 31, p. 1–15
	Amalio Telenti, Emma B. Hodcroft, David L. Robertson <b>The Evolution and Biology of SARS-CoV-2 Variants</b> <i>Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine</i> , 2022, vol. 12, p. 1-24
Forcer la dégradation des récepteurs	Hadir Marei, Wen-Ting K. Tsai <i>et al.</i> <b>Antibody targeting of E3 ubiquitin ligases for receptor degradation</b> <i>Nature</i> , 2022, vol. 610, p.182-189
	Quan Yang, Jinyao Zhao <i>et al.</i> <b>E3 ubiquitin ligases: styles, structures and functions</b> <i>Molecular Biomedicine</i> , 2021, vol. 2:23, p.1-17
Should I stay or should I go : une décision que les virus prennent ensemble.	Zohar Erez, Ida Steinberger-Levy <i>et al.</i> <b>Communication between viruses guides lysis–lysogeny decisions</b> <i>Nature</i> , 2017, vol. 541, p. 488-493
	Aisling Brady, Alonso Felipe-Ruiz <i>et al.</i> <b>Molecular Basis of Lysis–Lysogeny Decisions in Gram-Positive Phages</b> <i>Annual Review of Microbiology</i> , 2021, vol. 75, p. 563–581
De la bactérie à l'homme, des mécanismes de	Aude Bernheim, Adi Millman <i>et al.</i> <b>Prokaryotic viperins produce diverse antiviral molecules</b> <i>Nature</i> , 2021, vol. 589, p. 120–124

défense universels	<p>François Rousset  <b>Innate immunity: the bacterial connection</b>  <i>Trends in Immunology</i>, 2023, vol. 44, p. 945-953</p>
L'origine légendaire des eucaryotes.	<p>Thiago Rodrigues-Oliveira, Florian Wollweber <i>et al.</i>  <b>Actin cytoskeleton and complex cell architecture in an Asgard archaeon</b> <i>Nature</i>, 2023, vol. 613, p. 332-339</p>
	<p>Caner Akil, Yoshihito Kitaoku <i>et al.</i>  <b>Mythical origins of the actin cytoskeleton</b>  <i>Current Opinion in Cell Biology</i>, 2021, vol. 68, p. 55–63</p>
Nitroplastés : organelles ou symbiontes ?	<p>Francisco M. Cornejo-Castillo, Keisuke Inomura <i>et al.</i>  <b>Metabolic trade-offs constrain the cell size ratio in a nitrogen-fixing symbiosis</b>  <i>Cell</i>, 2024, vol. 187, p. 1762–1768</p>
	<p>Rachel A. Foster, Jonathan P. Zehr  <b>Diversity, Genomics, and Distribution of Phytoplankton-Cyanobacterium Single-Cell Symbiotic Associations</b>  <i>Annual Review of Microbiology</i>, 2019, vol. 73, p. 435–456</p>
Bactériophages : des tireurs d'élite pour moduler le microbiote	<p>Sara Federici, Sharon Kredo-Russo <i>et al.</i>  <b>Targeted suppression of human IBD-associated gut microbiota commensals by phage consortia for treatment of intestinal inflammation</b>  <i>Cell</i>, 2022, vol. 185, p. 2879–2898</p>
	<p>Sara Federici, Denise Kviatcovsky <i>et al.</i>  <b>Microbiome-phage interactions in inflammatory bowel disease</b>  <i>Clinical Microbiology and Infection</i>, 2023, vol. 29, p. 682-688</p>
Un voyage dans l'intestin rediffusé grâce aux sentinelles d'enregistrement transcriptionnel.	<p>Florian Schmidt, Jakob Zimmermann <i>et al.</i>  <b>Noninvasive assessment of gut function using transcriptional recording sentinel cells</b>  <i>Science</i>, 2022, vol. 376, p. 1-16</p>
	<p>Sierra K Lear, Seth L Shipman  <b>Molecular recording: transcriptional data collection into the genome</b>  <i>Current Opinion in Biotechnology</i>, 2023, vol. 79, p. 1-6</p>
Micro-vampires.	<p>Yoann G. Santin, Adrià Sogues <i>et al.</i>  <b>Lifecycle of a predatory bacterium vampirizing its prey through the cell envelope and S-layer</b>  <i>Nature Communications</i>, 2024, vol. 15:3590, p.1-12 ici</p>
	<p>Juana Pérez, Aurelio Moraleda-Muñoz <i>et al.</i>  <b>Bacterial predation: 75 years and counting!</b>  <i>Environmental Microbiology</i>, 2016, vol. 18, p. 766–779</p>

Changer de peau.	Hisato Nagano, Naoaki Mizuno <i>et al.</i> <b>Skin graft with dermis and appendages generated in vivo by cell competition</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol. 15:3366, p. 1-12 ici
	Rostislav V. Shevchenko, Stuart L. James, S. Elizabeth James <b>A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction</b> <i>Journal of the Royal Society Interface</i> , 2010, vol. 7, p. 229–258
Comprendre la cirrhose alcoolique.	Bani Mukhopadhyay, Cheryl Marietta <i>et al.</i> <b>A patient-based iPSC-derived hepatocyte model of alcohol-associated cirrhosis reveals bioenergetic insights into disease pathogenesis</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol.15:2869, p. 1-19 ici
	Arantza Lamas-Paz, Fengjie Hao <i>et al.</i> <b>Alcoholic liver disease: Utility of animal models</b> <i>World Journal of Gastroenterology</i> , 2018, vol. 24, p. 5063-5075
Galectin3 une piste sucrée.	Qian Jiang, Qijin Zhao <i>et al.</i> <b>Galectin-3 impairs calcium transients and <math>\beta</math>-cell function</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol. 15:3682, p. 1-17 ici
	Marc Y. Donath, Steven E. Shoelson <b>Type 2 diabetes as an inflammatory disease</b> <i>Nature Reviews Immunology</i> , 2011, vol. 11, p. 98-107
La voie PERK une piste contre la myocardite virale.	Junying Wang, Wenting Lu <i>et al.</i> <b>Loss of TRIM29 mitigates viral myocarditis by attenuating PERK-driven ER stress response in male mice</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol. 15:3481, p. 1-16 ici
	Ari Pollack, Amy R. Kontorovich <i>et al.</i> <b>Viral myocarditis—diagnosis, treatment options, and current controversies</b> <i>Nature Reviews Cardiology</i> , 2015, vol.12, p 670–680, p. 1-12 ici
La voie YAP une piste contre le cancer.	Franziska Haderk, Yu-Ting Chou <i>et al.</i> <b>Focal adhesion kinase-YAP signaling axis drives drug-tolerant persister cells and residual disease in lung cancer</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol. 15:3741, p. 1-19 ici
	Shensi Shen, Stéphan Vagner, Caroline Robert <b>Persistent Cancer Cells: The Deadly Survivors</b> <i>Cell</i> , 2020, vol. 183, p. 860-874
Régulation de la chromatine.	Pierre Romero, Laia Richart <i>et al.</i> <b>EZH2 mutations in follicular lymphoma distort H3K27me3 profiles and alter transcriptional responses to PRC2 inhibition</b> <i>Nature Communications</i> , 2024, vol. 15:3452, p.1-19 ici

	<p>Alfredo M. Valencia, Cigall Kadoch  <b>Chromatin regulatory mechanisms and therapeutic opportunities in cancer</b>  <i>Nature Cell Biology</i>, 2019, vol. 21, p. 1-22 ici</p>
Signalisation lumineuse.	<p>Ruth Jean Ae Kim, De Fan <i>et al.</i>  <b>Photobody formation spatially segregates two opposing phytochrome B signaling actions of PIF5 degradation and stabilization</b>  <i>Nature Communications</i>, 2024, vol. 15:3519, p.1-14 ici</p>
	<p>Elise K. Van Buskirk , Peter V. Decker , Meng Chen  <b>Photobodies in Light Signaling</b>  <i>Plant Physiology</i>, 2012, vol. 158, p. 52–60</p>
Tango pour cicatriser?	<p>Ishier Raote, Ann-Helen Rosendahl <i>et al.</i>  <b>TANGO1 inhibitors reduce collagen secretion and limit tissue scarring</b>  <i>Nature Communications</i>, 2024, vol. 15:3302, p.1-12 ici</p>
	<p>Alain Lescoat, John Varga <i>et al.</i>  <b>New promising drugs for the treatment of systemic sclerosis: Pathogenic considerations, enhanced classifications, and personalized medicine</b>  <i>Expert Opinion on Investigational Drugs</i>, 2021, vol. 30(6), p 635-652, p. 1-37 ici</p>

## RAPPORT DU JURY D'ECD

### **Statistiques des résultats de l'épreuve**

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,41 / 20**
- Meilleure note : **18,00 / 20**
- Note la plus basse : **05,00 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,36 / 20**

### **Rapport sur l'épreuve d'ECD**

Chaque dossier comporte sous forme papier un article de recherche associé à une revue. 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, des illustrations supplémentaires pourront être trouvées sur des ouvrages disponibles à la bibliothèque ou sur internet. Cet exercice doit permettre à l'ensemble du jury de comprendre la problématique posée, la chronologie et logique expérimentale et les éléments de réponses apportés par la publication scientifique. L'exposé doit présenter la ou les hypothèse(s) et question(s) scientifique(s) posée(s) ainsi que la démarche scientifique et technologique adoptée pour apporter des éléments de réponse. Il est donc préférable d'éviter de donner la conclusion de l'article de recherche en introduction. La structure de la présentation ne nécessite pas forcément un plan différent de celui de l'article, structure qui est présentée à la fois dans le résumé (abstract), l'Introduction et la Discussion/Conclusion. Les résultats et technologies présentés devront être cohérents et suffisants afin de bien comprendre la logique et la progression expérimentale mises en place pour répondre à la/les question(s) posée(s). La structure de la présentation peut donc être basée sur celle de l'article qui est généralement constitué d'une Introduction, de « matériels et méthodes », de Résultats présentés et analysés et d'une Conclusion associée à des perspectives. Le choix de ne pas présenter certaines figures/tableaux//résultats/données sera susceptible d'être questionné par les membres du jury.

Dans l'introduction de votre présentation, il est important de resituer l'étude dans un contexte plus large, scientifique voire sociétal si le sujet s'y prête, ce qui n'a pas toujours été fait par les candidats. Cependant, la question scientifique à laquelle l'article de recherche répond doit être clairement posée, ainsi que les connaissances scientifiques préalables à l'étude. Ces connaissances et informations sont présentes et 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, y compris dans la dimension technologique des manipulations rapportées et ne pas présenter uniquement une série de conclusions. Elle ne doit pas forcément être un exposé linéaire et exhaustif des différentes expériences mais correspondre à un choix justifié pour expliciter la démarche scientifique suivie et les stratégies technologiques utilisées par les auteurs de l'article afin de répondre à la/aux question(s) posée(s) en début d'article. 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 associés. 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 qui jalonnent l'article de recherche, ainsi  
**Agrégation externe Biochimie Génie Biologique 2024 – RAPPORT DE JURY** **Page 86 / 92**

que les conclusions intermédiaires sont attendus. En cas de techniques centrales ou originales dans l'article, ou d'approches expérimentales complexes, une description du principe de l'expérience est attendue (l'accès à Internet permet de trouver des représentations synthétiques de ces techniques). Les « nouvelles technologies », notamment de séquençage à haut débit (NGS) et de méta-séquençage et les principes de leur analyse, doivent être maîtrisées, et font, quand elles sont utilisées par les auteurs de l'article de recherche, systématiquement l'objet de questions de la part du jury. Il peut parfois être pertinent, au fil de l'exposé, de souligner, quand cela s'y prête, une partie perfectible d'expériences (contrôles supplémentaires, taille de l'échantillon, analyse statistique...), et de proposer une ouverture aux données présentées. Une conclusion reprenant les résultats majeurs (certains de ces éléments conclusifs seront trouvés dans la Discussion et la Conclusion de l'article de recherche), éventuellement sous forme de schéma récapitulatif, est attendue. Le jury appréciera également des perspectives réalistes et une analyse critique globale de l'étude présentée.

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

Enfin, les questions représentent la moitié du temps de l'épreuve. Cet aspect qui fait partie intégrante de l'épreuve n'est donc pas à négliger, car pris en compte dans la note finale. 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 proposé les supports de l'ECD, les 15 minutes restantes étant réparties entre les autres membres du jury. Remarque : en cas d'exposé oral inférieur à 30 minutes, le temps de questionnement reste de 30 minutes. Ces questions sont l'occasion pour le jury de sonder le candidat sur la pleine compréhension de l'article de recherche, sur l'étendue et la solidité de ses connaissances technologiques et scientifiques, et sur sa capacité à répondre, le cas échéant, à des questions en marge du domaine traité dans le dossier. La capacité d'écoute, la précision/pertinence du vocabulaire utilisé, ainsi que la qualité et la concision des réponses sont des qualités très appréciées et évaluées par le jury.

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

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

### **Rapport sur les questions relatives à la Chimie**

Pour la session 2024, l'entretien avec le jury s'est terminé par cinq minutes de questions de chimie. La discussion a été initiée sur la base d'un ou plusieurs éléments contenus dans la présentation du candidat ou dans les réponses aux questions.

L'objectif de ces questions n'est pas de mettre en difficulté le candidat, mais de prendre du recul sur les notions de chimie évoquées (concepts, modèles, techniques expérimentales).

Cette année, les questions ont globalement porté sur les thèmes ci-dessous (cette liste n'est pas exhaustive et a vocation à évoluer d'une session à l'autre). Ils appellent les commentaires suivants

:

Architecture de la matière :

- L'établissement d'une configuration électronique d'un élément dans son état fondamental est laborieux. Il en est de même pour positionner un des vingt premiers éléments dans le tableau périodique.
- La justification de la formation d'un ion, semble maîtrisée pour les métaux alcalins et alcalino-terreux, mais pas pour les éléments du bloc d.
- La représentation de Lewis des molécules est bien souvent très approximative (manque de doublets non liants). En revanche, la détermination de la géométrie des molécules par la méthode VSEPR est plutôt bien maîtrisée.
- Les structures des molécules essentielles en biochimie (acides aminés, sucres simples, sucres phosphatés, triglycérides, bases nucléiques...) sont représentées très approximativement ou parfois totalement inconnues.
- Les interactions intermoléculaires sont plutôt bien connues à l'exception de l'interaction ion-dipôle permanent.
- La polarité d'une molécule ou d'une liaison est trop souvent justifiée par la simple présence d'un doublet non liant et non par l'existence d'un moment dipolaire, induit par une différence d'électronégativité.

Chimie des solutions/chimie inorganique :

- Les transformations chimiques modélisées par des réactions acido-basique ou d'oxydoréduction sont plutôt bien maîtrisées.
- L'estimation ou le calcul d'un pH sans calculatrice à partir d'une concentration simple en ions  $H_3O^+$  est rarement mené à son terme.
- Les propriétés des solutions tampon sont souvent partiellement énoncées.
- La structure générale d'un complexe est connue.

Thermodynamique :

- Les grandeurs  $G$ ,  $H$  et  $S$  sont connues ainsi que le lien entre la constante thermodynamique et  $\Delta_r G^\circ$ .
- Par rapport à la session 2023, les candidats utilisent avec plus de rigueur les grandeurs  $G$ ,  $\Delta G$ ,  $\Delta G^\circ$  ou encore  $\Delta_r G^\circ$ .
- Il est rappelé aux candidats que la relation  $K^\circ = Q_r$  n'est valable qu'à l'équilibre chimique.

Cinétique :

- Les notions de catalyse et de catalyse enzymatique sont maîtrisées.
- Le modèle de catalyse enzymatique de Michaelis-Menten n'est pas toujours établi avec suffisamment de rigueur. En revanche la signification des constantes  $K_M$  et  $v_{max}$  est bien connue.

Chimie organique :

- La réactivité des fonctions classiques en chimie est plutôt bien connue.

Techniques d'analyse :

- Les techniques expérimentales « classiques » en chimie, telles que la chromatographie (CCM et HPLC), UV, fluorescence, IR, MS sont plutôt bien expliquées.
- En revanche, les concepts physico-chimiques utilisés en biotechnologie sont souvent mal maîtrisés (Histrap, design moléculaire de ligands chélateurs fluorescents, analyse du chromophore de la GFP ou de PHYB).

- La relation liant  $E$  et  $\lambda$  est connue très approximativement. Certains candidats ne savent pas mener correctement une analyse dimensionnelle pour vérifier la cohérence de leur expression littérale (équation aux grandeurs).

Le jury conseille aux futurs candidats :

- De se servir du temps de préparation pour réfléchir aux structures des molécules classiques de chimie et de biochimie (y compris les solvants) évoquées lors de leur présentation. Il en est de même pour les principes physico-chimiques sous-jacents aux techniques d'analyse (chimique, biochimique, microbiologique, ...) présentées.
- De garder leur concentration durant la totalité de l'épreuve, y compris lors de la transition avec les questions de chimie.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Les candidats présents aux épreuves d'admissibilité et d'admission venaient, comme chaque année, d'horizons assez différents, y compris de doctorats en sciences d'une des disciplines biologiques incluses dans le programme du concours, 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 que dans l'ensemble des 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 des nouveaux concepts 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 futur(e)s agrégé(e)s qui doivent s'approprier avant le concours les nouveaux concepts pour être en mesure de les expliquer, comme ils pourraient le faire à des élèves, des étudiants, des techniciens, des ingénieurs ou des chercheurs. Chaque épreuve nécessite d'autre part, comme cela a été précisé dans chacun des rapports spécifiques, d'aborder le sujet par un temps de réflexion pour cerner le sujet et la problématique, faire preuve de bon sens, avoir présent à l'esprit la volonté de transmettre un message qui aidera, par la structuration d'une composition écrite ou d'une présentation orale, à distinguer et rendre compréhensible l'essentiel. 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 plus encore lorsque le corpus de connaissances attendues est très important.

Les travaux pratiques s'appuyant sur des technologies devant être maîtrisées, qui constituent une des originalités de ce concours ont pu, remplir leur rôle, emblématique de cette agrégation, préfigurant une part non négligeable des enseignements auxquels sera confronté le futur agrégé de « biochimie génie biologique ». L'évaluation des compétences technologiques et expérimentales qui se déploient en lycée général et technologique, ou à l'IUT, dans les laboratoires de biochimie, de microbiologie de biologie humaine, de biologie moléculaire, de biologie cellulaire. Ces compétences sont indispensables pour assurer la formation en STL biotechnologies, en BPH en ST2S, dans les 7 sections de BTS de « Biologie Appliquée », en CPGE Technologie Biologie ou en BUT de

génie biologique, dans lesquelles enseignent les professeurs agrégés de BGB. Ces compétences sont également indispensables pour la mise en œuvre, l'analyse et l'exploitation de manipulations en laboratoire de recherche en biologie pour ceux qui choisiront de poursuivre par un doctorat pour devenir chercheur.

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

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

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

Je tiens à remercier en particulier Madame Nora Machuré, Provisoire de l'ENCPB et son équipe : proviseurs-adjoints, DDFPT, professeurs agrégés de « biochimie - génie biologique » concepteurs de sujet et préparateurs des épreuves pratiques, qui ont évalué les prestations des candidats, conçu, et préparé les Travaux Pratiques avec l'aide des personnels de laboratoire de chimie, de biochimie, de microbiologie, de biologie cellulaire et moléculaire, indispensables au bon déroulement des épreuves pratiques. Grâce à l'engagement de chacun des acteurs impliqués dans sa préparation et son organisation, la session 2024 de l'agrégation de biochimie-génie biologique a pu avoir lieu dans des conditions très satisfaisantes, et ce en dépit de l'*aléa* « alerte à la bombe » en début de l'épreuve de Travaux Pratiques de Chimie.