

CONCOURS DE TECHNICIEN DE LABORATOIRE DE LA POLICE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE

du jeudi 4 janvier 2001 à 9 h 30 (heure de Paris)

CONCOURS EXTERNE

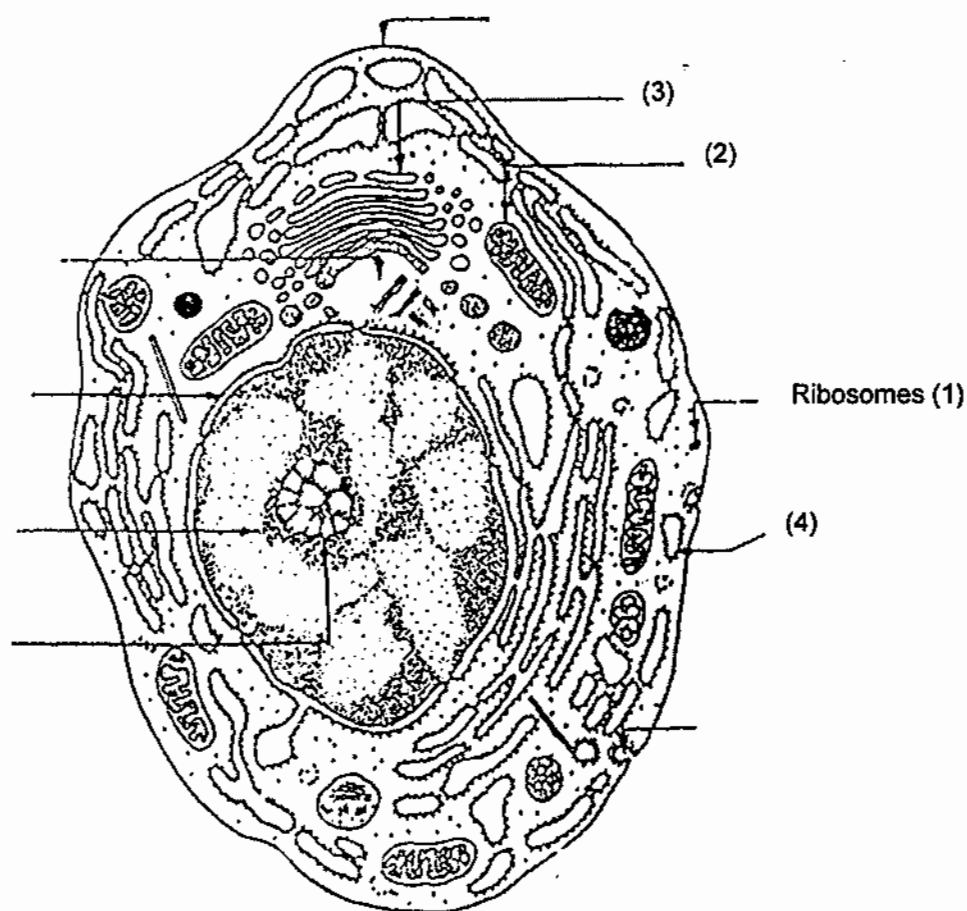
BIOLOGIE

Durée : 3 heures - coefficient : 2

*Seules les calculatrices non alpha-numériques sont autorisées
Il vous appartient de vous assurer que le sujet en votre possession
comporte la totalité des pages*

QUESTION I (1,5 points)

Annotez le document ci-dessous et précisez en quelques mots le rôle des structures numérotées : 1 - 2 - 3 - 4

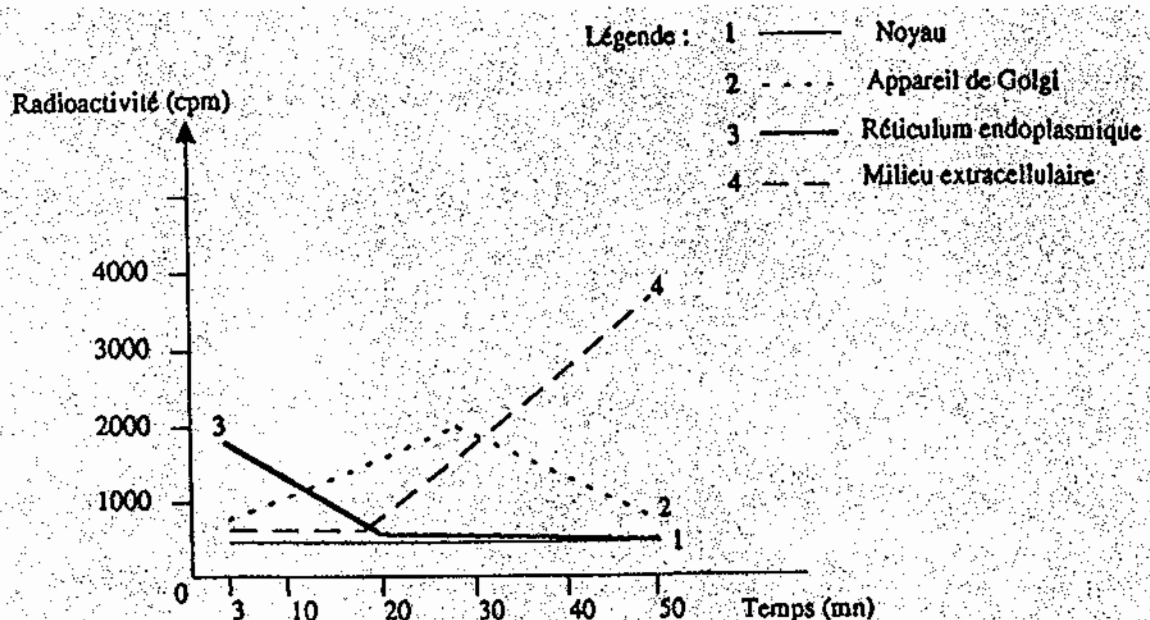


Titre : _____

QUESTION II (1,5 points)

On injecte à un lot de rats de la LEUCINE, marquée au tritium. A des temps donnés, des rats sont sacrifiés, leur foie est prélevé, broyé et par centrifugations successives, les organites subcellulaires sont isolés. La radioactivité associée à chaque fraction est mesurée.

Les résultats obtenus sont les suivants :



- 1) Justifiez l'utilisation de la Leucine tritiée.
- 2) Quel phénomène met-on en évidence dans cette expérience ? Analysez les quatre cinétiques.
- 3) En vous appuyant sur ces cinétiques et sur ce que vous savez de l'organisation cellulaire décrivez et localisez en quelques lignes les différentes étapes de la biosynthèse des protéines.
- 4) Quelles étapes de l'expression d'une protéine ne sont pas du tout étudiées dans ce type d'expérience ? Quel(s) type(s) de molécule aurait-on dû injecter pour étudier ces étapes ?

QUESTION III (1,5 points)

Le tétanos est une maladie grave, due à un bacille qui sécrète une toxine. Cette toxine provoque des contractions musculaires des mâchoires, puis des muscles respiratoires, pouvant entraîner la mort. A partir de la toxine tétanique, on peut fabriquer de l'anatoxine, en ajoutant du formol à 0.40 % et en plaçant le tout à 40°C. On injecte de l'anatoxine tétanique à un lapin et on prépare du sérum à partir de ce lapin.

A une solution aqueuse d'anatoxine tétanique, on ajoute du sérum du lapin et on constate un précipité.

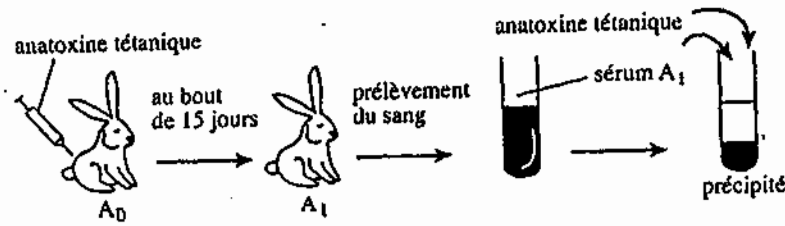


Figure 1

- 1) Quelle est la nature de la réaction ? Que contient le sérum du lapin ? Quelle est l'origine des substances actives ?
- 2) Quelle est la propriété qu'a conservée l'anatoxine ?
- 3) Quelle serait la réaction du lapin lors d'une injection de toxine tétanique ?
- 4) Dans un deuxième temps, on réalise les expériences de la figure suivante :

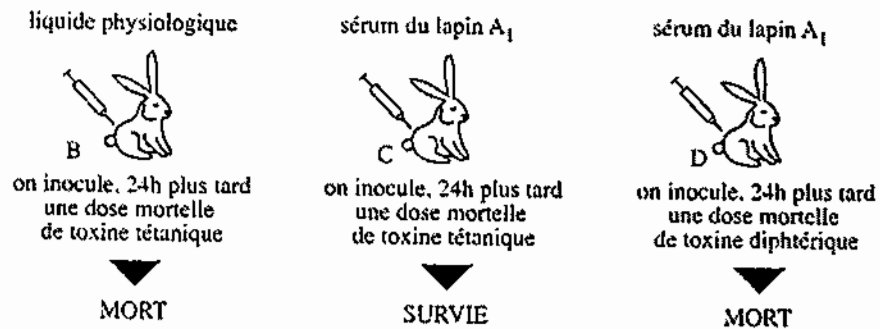


Figure 2

Interprétez ces expériences.

- 5) A partir des expériences des deux figures, quels sont les caractères de l'immunité mis en évidence ?

QUESTION IV (2,5 points)

On possède en laboratoire une souche pure de Drosophiles, o , qui a des ailes fortement obliques [o].

1) Qu'est-ce qu'une souche pure ?

Croisement 1 ♀ o x ♂ $+$

(par convention, on appellera $+$ la souche pure sauvage). On obtient des descendants F_1 [$+$]

2) Que vous indique ce résultat ?

Ces descendants F_1 peuvent être croisés par des parents $+$ ou par des parents o .

3) Quel nom portent de tels croisements ?

Croisement 2 : On choisit de croiser les descendants F_1 par des parents o .

4) Pourquoi a-t-on choisi ce croisement plutôt que le croisement F_1 x $+$?

5) Quel autre nom donne-t-on à ce type de croisement ?

La descendance du croisement F_1 x o se répartit en 94 [o] et 104 [$+$].

6) Que vous indiquent les proportions observées ?

Croisement 3 : ♀ F_1 x ♂ F_1 . La descendance F_2 se répartit en 152 [$+$] et 40 [o].

7) Expliquez pourquoi ces résultats sont compatibles avec ceux du croisement 2. (Notez qu'il n'est pas nécessaire de faire appel à un "tableau des gamètes" pour répondre à ce genre de questions. Evitez leur emploi chaque fois qu'ils peuvent être remplacés par un raisonnement simple).

QUESTION V (1,5 points)

Vous devez préparer 250 mL de tampon d'extraction d'ADN génomique dont voici la composition:

Voici la composition finale du tampon

Tris HCl pH 8	100 mM
EDTA pH8	20 mM
NaCl	1,4 M
CTAB	2 % (m/v)
Mercaptoéthanol	2 ‰ (v/v)

Voici les éléments dont vous disposez

Tris HCl pH 8	1 M
EDTA pH8	0,5 M
NaCl	5 M
CTAB	poudre
Mercaptoéthanol	liquide

Comment préparez-vous ce tampon d'extraction ? (le matériel utilisé n'est pas demandé)

QUESTION VI (3 points)

Vous avez fait synthétiser 2 amorces pour amplifier par PCR un fragment d'ADN de 550 paires de bases. Ils sont conditionnés sous forme de culot lyophilisé pour l'expédition. Les données du fournisseur sont les suivantes :

Amorce A: 5'-ACAAAAGAAACCAGCGAGG -3'

Masse molaire: 5873 g/mole

Quantité : 539 µg

Amorce B: 5'-AAACTTCTTGTGGTTCCTCA -3'

Masse molaire: 6058 g/mole

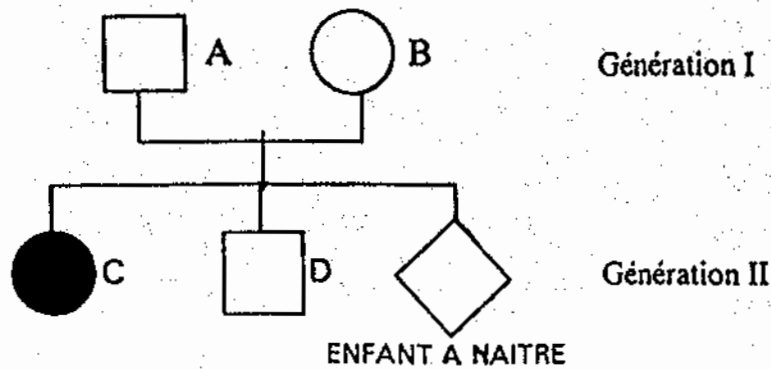
Quantité : 420 µg

- 1) Définissez une solution tampon.
- 2) Vous désirez faire une solution de stockage à 200 µM. Quel volume de tampon ajoutez-vous pour remettre le culot d'ADN en solution pour chacun des deux oligonucléotides ?
- 3) Définissez la température de fusion (T_m).
- 4) Calculez les températures de fusion (T_m) de ces 2 oligonucléotides par la méthode la plus simple [$T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$].
- 5) Expliquez pourquoi dans la formule de la température de fusion, les coefficients multiplicateurs appliqués à (A+T) et (G+C) sont différents.

QUESTION VII (4,5 points)

Une maladie génétique autosomale touche la famille X

Généalogie de la famille X



Légende

□	♂	non atteint	} phénotypes
○	♀	non atteint	
●	♀	malade	

- 1) Quel est le déterminisme génétique de la maladie ?
- 2) Chez le patient atteint, une valine remplace un acide glutamique dans une des chaînes de la protéine.

La séquence d'ADN du gène codant pour la synthèse de la chaîne est de :

Patient

5' -- A T G T G G A G T G A G G T C A C C -- 3' brin A
 3' -- T A C A C C T C A C T C C A G T G G -- 5' brin B

Sujet non atteint

5' -- A T G T G G A G T G A G G T C T C C -- 3' brin A
 3' -- T A C A C C T C A C T C C A G A G G -- 5' brin B

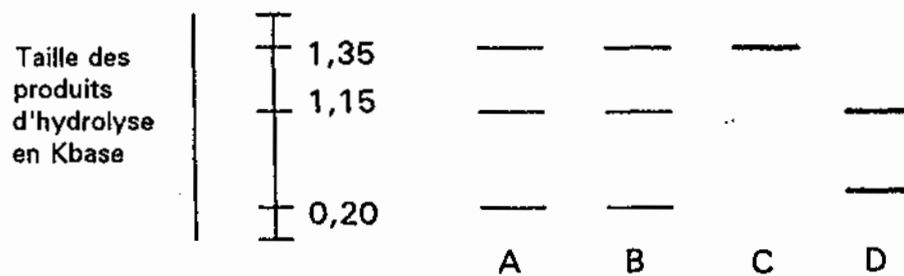
Déterminez le brin transcrit et le triplet de base « responsable » de l'anomalie. Justifiez précisément votre réponse.

Code génétique

1 ère position (extrémité 5')	2ème position				3ème position (extrémité 3')
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

- 3) Sur l'ADN de chacun des membres de la famille, on fait agir une enzyme de restriction, enzyme qui catalyse l'hydrolyse de la chaîne d'ADN et dont le site d'action se situe au niveau d'une séquence spécifique de bases. Les produits de cette hydrolyse sont soumis ensuite à une électrophorèse et les fragments du gène étudié sont spécifiquement révélés.

Voici les résultats obtenus chez les membres de la famille X



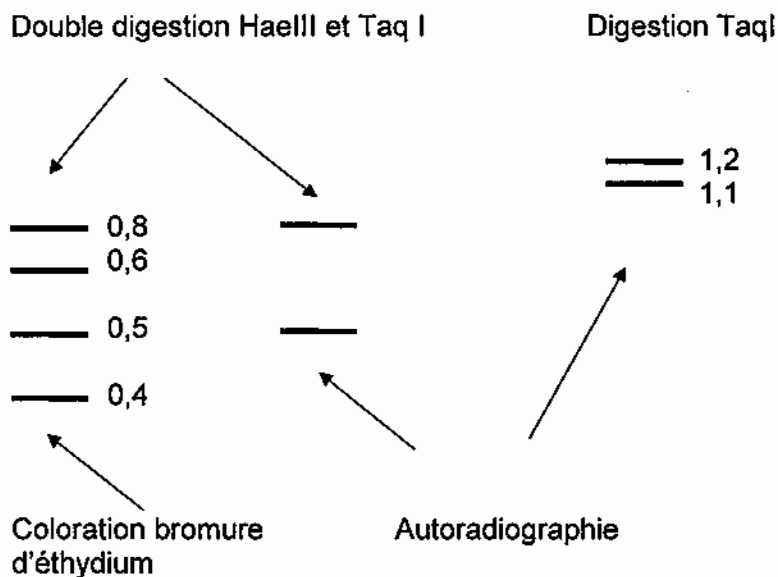
- Précisez le sens de la migration et indiquez les bornes électriques. Justifiez votre réponse en quelques mots.
- Analysez les résultats de l'expérience et en déduire le génotype des individus A, B, C, et D.
- Calculez la probabilité pour que l'enfant à naître ne soit pas atteint de la maladie.
- On cherche à déterminer la séquence du brin B du patient par la technique de Sanger aux didésoxyribonucléotides. Précisez ce qui sera synthétisé dans le tube où se trouve le mélange de réactifs contenant entre autres dATP, dGTP, dCTP, dTTP, ddATP.

QUESTION VIII (2,5 points)

Des clones correspondant à l'ADN génomique et l'ADN complémentaire d'une enzyme phosphatase ont été isolés. D'après les résultats suivants, les caractéristiques structurales du gène et de son transcrit peuvent être déterminées.

Carte de l'ADNc :

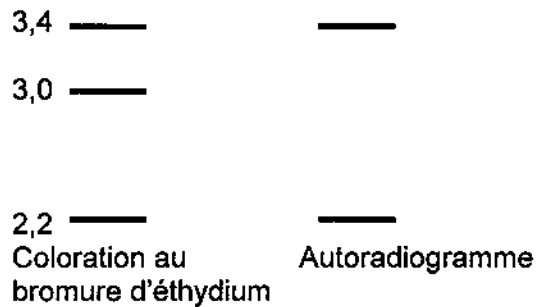
Le fragment d'ADNc a été sorti du plasmide par digestion enzymatique avec TaqI et ses extrémités ont été marquées au ^{32}P . Il a ensuite été digéré par l'enzyme de restriction HaeIII. Les analyses électrophorétiques donnent les résultats suivants (la bande correspondant au plasmide n'est pas représentée):



Dessinez la carte de restriction de l'ADNc en positionnant les sites de restriction et indiquant les distances entre chaque site ainsi que les distances par rapport à une origine.

Carte de l'ADN génomique:

Le fragment d'ADN génomique est excisé d'un clone de phage lambda par digestion EcoRI, puis ses extrémités sont marquées au ^{32}P . Il a ensuite été digéré par l'enzyme de restriction BamHI. Les électrophorèses donnent les résultats suivants (les bandes correspondant au phage ne sont pas représentées)



Dessinez la carte de restriction du fragment génomique en positionnant les sites de restriction, indiquant les distances entre chaque sites.

QUESTION IX (1,5 points)

Après extraction, on veut quantifier une solution d'ADN génomique de plante. On mesure au spectrophotomètre l'absorbance à 260 nm en déposant 2 μL d'ADN dans la cuve contenant 498 μL d'eau. L'absorbance lue est de 0,3 et le ratio de A_{260}/A_{280} est de 1,85.

Sachant qu'une unité d'absorbance à 260 nm correspond à une concentration en ADN génomique double brin de 50 $\text{ng}/\mu\text{L}$:

Quelle est la concentration de la solution de départ ?

Que mesure le ratio A_{260}/A_{280} ?

Que signifie un ratio de 1,85 ?