

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

**SESSION 2016**

***BIOLOGIE***

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

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

Il vous appartient de vous assurer que le sujet en votre possession comporte la totalité des pages (11 pages dont une annexe).

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

***ANNEXE 1 à rendre avec la copie***

***Matériel autorisé :  
Calculatrice non programmable, non alpha-numérique autorisée***

*Le sujet est noté sur un barème total de 70 points ; La note finale sera exprimée sur 20 points.*

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

## QUESTIONNAIRE A CHOIX MULTIPLES (10 points)

Chaque question comporte au moins une bonne réponse. Reporter sur votre copie le numéro de la question et la ou les lettres des réponses correspondantes. Merci de respecter l'ordre des questions sur votre copie.

*Barème*

*Réponse correcte et complète : 1 point*

*Absence ou réponse incomplète : 0 point*

- 1- L'hydrolyse d'un acide nucléique révèle la présence dans le milieu de bases, telles que l'adénine et la thymine et d'un seul type d'ose :
  - a. Il s'agit d'ADN
  - b. L'ose retrouvé est le ribose
  - c. L'ose retrouvé est le désoxyribose
  - d. Les autres bases retrouvées sont la cytosine, l'uracile et la guanine
  - e. Les autres constituants majoritaires retrouvés sont la cytosine et la guanine
  
- 2- Pendant la phase S de l'interphase :
  - a. Le nombre de chromosomes double
  - b. Le nombre de molécule d'ADN double
  - c. Il y a intervention de l'ARN polymérase
  - d. Les chromosomes sont condensés
  - e. Les chromatides sont dupliquées
  
- 3- Si l'on souhaite suivre, de manière spécifique, la localisation cytotologique d'une molécule d'ARN, on peut réaliser une expérience de « pulse-chase » (chasse isotopique) en utilisant comme molécule radioactive :
  - a. De l'adénine
  - b. De la thymine
  - c. De la guanine
  - d. De la cytosine
  - e. De l'arginine
  - f. De l'uracile

4- La molécule d'ADN d'un gène contient 80 molécules de guanine et 120 molécules de thymine. L'ARN transcrit à partir de ce gène comporte 22 molécules de cytosine et 34 molécules d'adénine. On peut dire que :

- a. Le brin codant de ce gène contient 86 molécules de thymine
- b. L'ARN transcrit à partir de ce gène contient 22 molécules de guanine
- c. L'ARN transcrit à partir de ce gène contient 34 molécules de thymine
- d. Le brin transcrit de ce gène contient 58 molécules de cytosine
- e. La portion d'ADN correspondant à ce gène contient 200 nucléotides

5- Normalement, un crossing-over :

- a. A lieu d'une manière aléatoire à n'importe quel moment de la méiose
- b. Assure un brassage allélique appartenant à des gènes portés par des chromosomes homologues
- c. Aboutit à 4 types de gamètes non équiprobables chez un individu ayant pour génotype (a+//a ; b+//b)
- d. Assure le brassage intrachromosomique
- e. A lieu en prophase de 1<sup>ère</sup> division de méiose pour toutes les cellules d'un organisme
- f. Conduit à des chromosomes constitués de 2 chromatides ne portant pas les mêmes allèles pour un gène à l'état hétérozygote

6- Combien y a-t-il de molécules d'ADN dans une cellule somatique humaine en métaphase où l'on a découvert l'existence du syndrome de Klinefelter ?

- a. 45
- b. 47
- c. 94
- d. 90
- e. 48
- f. 22

7- Un sujet sur 10000 naît phénylcétonurique (maladie due à un allèle récessif porté par un autosome). Donnez la possibilité qu'un sujet sain et masculin ou féminin pris au hasard dans une population soit porteur d'un allèle muté ?

- a. 1 possibilité sur 10
- b. 1 possibilité sur 20
- c. 1 possibilité sur 50
- d. 1 possibilité sur 100
- e. 1 possibilité sur 10000

8- Un site actif d'une enzyme :

- a. Est la partie de la molécule de substrat qui se fixe à l'enzyme
- b. Est une région limitée de la molécule d'enzyme
- c. Participe parfois à la formation du complexe enzyme substrat
- d. Est déterminé par l'organisation dans l'espace de la chaîne d'acides aminés de l'enzyme
- e. Est occupé par une molécule de substrat quand l'enzyme est dénaturée
- f. Reste occupé par le produit de la réaction enzymatique
- g. Perd sa fonction pour des valeurs de températures et de pH éloignées des valeurs optimales spécifiques à chaque enzyme

9- Les protéines :

- a. Chaque protéine renferme un grand nombre de liaisons peptidiques
- b. Les protéines ne sont pas caractérisées par la réaction du biuret
- c. La synthèse d'une chaîne polypeptidique dans la cellule est commandée par un gène
- d. L'électrophorèse permet de séparer les différentes protéines d'un mélange
- e. La diversité immense des protéines provient uniquement du nombre d'acides aminés qui les constituent

10- Chez les organismes diploïdes, la méiose aboutit à la formation de :

- a. 4 cellules diploïdes possédant deux exemplaires de la paire de chromosomes homologues
- b. 4 cellules diploïdes possédant un exemplaire de la paire de chromosomes homologues
- c. 4 cellules haploïdes possédant deux exemplaires de la paire de chromosomes homologues
- d. 4 cellules haploïdes possédant un exemplaire de la paire de chromosomes homologues
- e. 2 cellules haploïdes possédant un exemplaire de la paire de chromosomes homologues

### EXERCICES

#### Exercice 1 (5 points)

Réassociez les scientifiques et leur(s) découverte(s). *Reportez les couples sur votre copie.*

Découverte scientifique	Scientifique
Notions de gènes et d'hérédité	KOCH Robert
Structure de l'ADN	YERSIN Alexandre
Pénicilline	WATSON James Dewey
Méthode de séquençage	MONTAGNIER Luc
Prophylaxie anti-rabique	MORGAN Thomas Hunt
VIH	MENDEL Grégor
Recombinaison génétique	FLEMING Alexander
Bacille de la peste	CRICK Francis
Tuberculose	SANGER Frédéric
	PASTEUR Louis

#### Exercice 2 (5 points)

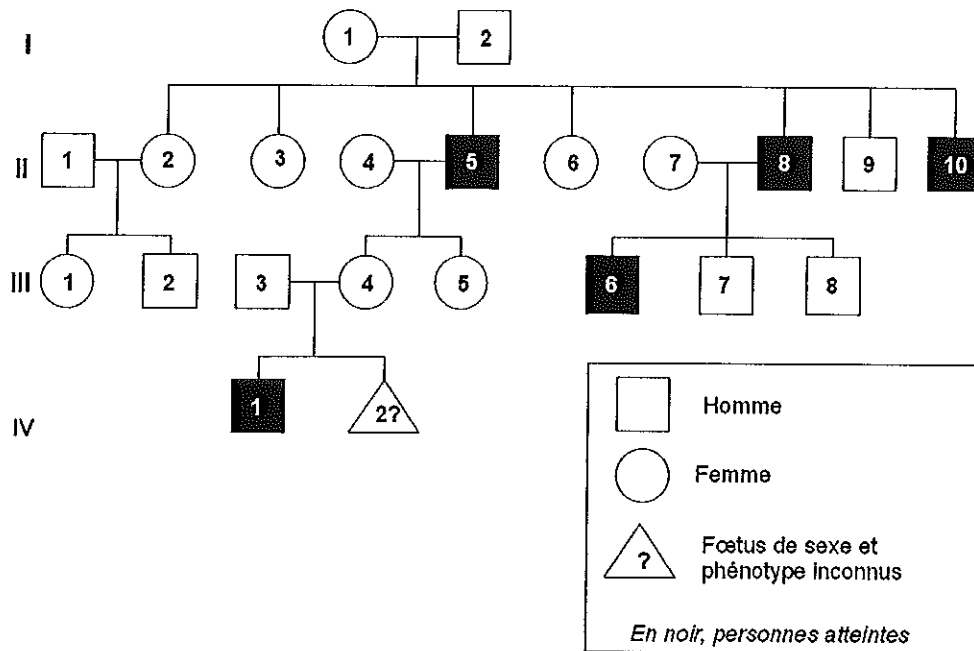
Remplissez le tableau situé en annexe 1 et indiquez dans chaque case :

**O** : réponse positive

**N** : réponse négative

### Exercice 3 (7 points)

On considère l'arbre généalogique ci-après d'une famille dont certains membres sont atteints d'une maladie héréditaire : l'agammaglobulinémie, ou maladie de Burton.



- 1- Déterminez, en le justifiant, le mode de transmission de l'allèle muté.
- 2- Donnez, en le justifiant, la localisation de l'allèle muté responsable de cette maladie.
- 3- Donnez le génotype des parents I.1, I.2, II.6 et II.7.
- 4- En détaillant votre raisonnement, calculez la probabilité que l'enfant à naître IV.2. soit atteint de cette maladie.
- 5- Sachant que la fréquence de l'allèle muté dans la population est de  $1/500$ , calculez la probabilité que le couple II.4/II.5 puisse avoir une fille atteinte.

## PROBLEME (43 points)

La protéine fluorescente verte (souvent abrégé GFP, de l'anglais « Green Fluorescent Protein ») est une protéine ayant la propriété d'émettre une fluorescence de couleur verte. Issue d'une méduse (*Aequorea victoria*), cette protéine est intrinsèquement fluorescente. Son gène peut être fusionné in-vitro au gène d'une protéine que l'on souhaite étudier. Le gène recombinant est ensuite réintroduit dans des cellules ou un embryon, qui va alors synthétiser la protéine de fusion, alors fluorescente. On pourra alors l'observer à l'aide d'un microscope à fluorescence, par exemple. Cette méthode permet d'étudier les protéines dans leur environnement naturel : la cellule vivante. La découverte et les applications de la GFP ont été couronnées par le prix Nobel de chimie décerné à Osamu Shimomura, Martin Chalfie et Roger Tsien le 8 octobre 2008.

### Partie A (12 points)

Afin d'étudier la structure de la GFP et d'optimiser ses propriétés biologiques par mutagenèse, on réalise son extraction puis sa purification à partir de la méduse *Aequorea victoria*.

La purification de la GFP met en œuvre plusieurs techniques chromatographiques dont la technique de Gel Filtration.

- 1- Donnez le principe de la séparation par gel filtration.
- 2- La purification d'une protéine peut être évaluée de manière qualitative ou quantitative. Citez une méthode de votre choix permettant :
  - l'évaluation qualitative
  - l'évaluation quantitative de la purification de votre protéine.

Lors des étapes d'extraction/purification de la GFP, vous devez préparer 1 litre de PBS (NaCl 0,15 M,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,25 M) de pH 7,2. Vous disposez pour cela de :

- NaCl en poudre (PM : 58,44 g.mol<sup>-1</sup>)
  - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (PM : 156,01 g.mol<sup>-1</sup>)
  - eau distillée
- 3- Citez le matériel nécessaire à la réalisation de cette solution.
  - 4- Indiquez les étapes et les quantités de produits utilisés.
  - 5- Expliquez comment mesurer le pH d'une solution et nommez le ou les produits que vous pourrez employer pour régler le pH à 7,2, celui-ci étant initialement de 8 lors de la préparation de la solution.

La structure de la GFP a été élucidée par diffraction des rayons X, ce qui a permis de définir une classe de protéine appelée boîte ou bidon  $\beta$  : «  $\beta$ -can ») : conformation en cylindre protégeant les fluorophores.

- 6- Décrivez les différents niveaux d'organisation d'une protéine en insistant sur la nature des liaisons qui en permettent le maintien.

Chaque molécule de GFP est un dimère dont les 2 protomères identiques sont constitués de 238 acides aminés. La zone de contact entre les 2 protomères met en évidence 2 groupes de résidus :

- Alanine, leucine, phénylalanine
- Tyrosine, acide glutamique, glutamine, asparagine, sérine, arginine

7- Indiquez la caractéristique chimique de chacun des 2 groupes permettant aux deux protomères de s'associer en dimère.

La stabilité remarquable (1/2 vie de 24h) de la fluorescence de la GFP native s'explique par la localisation des fluorophores.

8- Donnez la signification de l'expression « demi-vie de la fluorescence de la GFP ».

9- A partir des données structurales de la GFP, expliquez la stabilité de la fluorescence.

### **Partie B (5 points)**

Dans le but de produire de nouvelles molécules fluorescentes dérivées de la GFP, on a modifié par mutagenèse dirigée la structure primaire de la GFP. De nombreuses autres molécules ont été obtenues : la CFP (Cyan Fluorescent Protein), la BFP (Blue Fluorescent Protein), la YFP (Yellow Fluorescent Protein).....

10- Définissez « mutagenèse dirigée » et « mutagenèse aléatoire ».

11- Citez une méthode permettant de réaliser :

- une mutation ponctuelle dirigée
- des mutations aléatoires

12- Quelle(s) serai(en)t la(les) conséquence(s) d'une mutation ponctuelle pour la protéine ?

### **Partie C (10 points)**

Le gène de la GFP étant utilisé pour produire des protéines de fusion, il est nécessaire de le cloner. La méthode suivante a été mise en œuvre :

- Obtention des ADNc à partir de la fraction cytosolique d'un broyat cellulaire
- Utilisation de la bactérie *E.coli* pour réaliser une banque plasmidique d'ADNc,
- Criblage de la banque à l'aide d'une sonde oligonucléotidique marquée par une technique froide

13- Définissez précisément le terme « ADNc ».

14- Présentez à l'aide de schémas les étapes indispensables de la synthèse d'un ADNc à partir d'une extraction d'ARNm.



- 15- Justifiez l'utilisation d'un ADNc et non du gène naturel pour la production de la GFP chez *E.coli*.
- 16- Décrivez les étapes de l'incorporation de l'ADNc dans un vecteur de clonage.
- 17- Donnez le principe de la transformation d'une bactérie par la technique d'électroporation.
- 18- Présentez les éléments essentiels d'un vecteur plasmidique de clonage chez *E.coli* et précisez leur rôle.

Après étalement sur des milieux adéquates (100µL/boîte), les dénombrements des colonies bactériennes sur boîtes de Pétri effectués à différentes dilutions sont les suivants :

	Dilution				
	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Cellules totales	ND	ND	ND	114 /176/130	12/15/20
Transformants	67/82/51	12/5/8	ND	ND	ND

ND : Non déterminé

- 19- Déterminez la concentration bactérienne totale d'*E. coli* et celle des transformants. Calculez la fréquence de transformation.

#### Partie D (5 points)

Une équipe de recherche espère découvrir de nouvelles cibles d'antibiotiques en se basant principalement sur la technique dite « differential fluorescence induction » (DFI : induction différentielle de fluorescence). Des bactéries ont été transformées par des vecteurs exprimant la GFP sous le contrôle d'un promoteur fort et cultivées en présence de nouvelles molécules antibiotiques.

- 20- Définissez le terme « promoteur ».
- 21- Le gène codant la GFP est utilisé dans cette technologie comme gène rapporteur. Définissez ce terme et précisez le rôle d'une telle construction dans le contexte de l'étude réalisée.
- 22- A l'aide d'un schéma, indiquez 3 cibles des antibiotiques chez les bactéries et citez pour chacune d'elle un antibiotique actif.
- 23- Présentez 4 mécanismes de résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique.

### Partie E (11 points)

La GFP est utilisée pour produire des protéines de fusion afin de marquer par fluorescence divers constituants cellulaires. Par exemple, elle permet l'étude de la distribution dans l'espace de certains composants des chromosomes (centromères, télomères, gènes actifs et inactifs...) qui sont visualisés en microscopie confocale.

24- Définissez « télomère » et « centromère » ; précisez leur(s) rôle(s) respectif(s).

L'utilisation de la GFP permet aussi l'analyse du mouvement des chromosomes au cours des divisions cellulaires (mitose et méiose) et la mise en évidence du rôle du cytosquelette dans des mouvements intracellulaires variés.

25- Réalisez des schémas annotés d'une cellule diploïde ( $2n=6$ ) en anaphase I et en anaphase II de méiose, ainsi qu'en anaphase de mitose.

26- Citez deux constituants filamenteux du cytosquelette.

27- Décrivez les structures moléculaires de chacun d'entre eux.

La GFP est un outil de marquage qui peut constituer une alternative à l'utilisation des anticorps marqués qu'ils soient d'origine polyclonale ou monoclonale, pour le repérage des ultra-structures cellulaires.

28- Les anticorps monoclonaux sont généralement des immunoglobulines G. Présentez la structure d'une IgG sous forme d'un schéma annoté.

29- Définissez le terme d'anticorps monoclonal

\*\*\*\*\*

**ANNEXE 1 : à rendre avec la copie**

	Cellule animale	Cellule végétale	Champignon	Bactérie	Virus
<b>Eucaryote</b>					
<b>Procaryote</b>					
<b>Possède une membrane cellulaire</b>					
<b>Possède une capside</b>					
<b>Possède une enveloppe nucléaire</b>					
<b>Contient des mitochondries</b>					
<b>Contient des ribosomes</b>					
<b>Contient des chloroplastes</b>					
<b>Possède un ADN principal circulaire</b>					
<b>Possède une paroi</b>					
<b>Contient des plasmides</b>					