



## **Concours de recrutement du second degré**

### **Rapport de jury**

---

**Concours : AGREGATION INTERNE**

**Section : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE**

**Session 2019**

Rapport de jury présenté par : Jean-Marc RICORT

Président du jury

## SOMMAIRE

Renseignements statistiques.....	Page 3
Avant-propos du président.....	Page 5
Epreuves d'admissibilité .....	Page 8
Première épreuve .....	Page 8
Deuxième épreuve .....	Page 14
<b>Epreuves d'admission</b>	
<b>Première épreuve</b>	
Rapport.....	Page 19
<b>Deuxième épreuve</b>	
Sujet.....	Page 24
Rapport.....	Page 44
Conclusion générale.....	Page 47

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### Agrégation interne

<b>Nombre de postes</b>	<b>8</b>
<b>Candidats inscrits</b>	<b>118</b>
<b>Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité</b>	<b>47</b>
<b>Candidats admissibles</b>	<b>18</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission</b>	<b>18</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission</b>	<b>8</b>
<b><u>Epreuves d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>06,92</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles</b>	<b>09,64</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible</b>	<b>08,00</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>7,36</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>10,22</b>
Note maximale	<b>13,80</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>6,30</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>9,06</b>
Note maximale	<b>14,75</b>
<b><u>Epreuves d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>10,37</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>12,97</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>12,17</b>
Moyenne des candidats admis	<b>15,38</b>
Note maximale	<b>19,00</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>8,56</b>
Moyenne des candidats admis	<b>10,55</b>
Note maximale	<b>15,99</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>10,00</b>
<b>Moyenne la plus élevée</b>	<b>14,33</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>11,52</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis</b>	<b>10,12</b>

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### Concours d'accès à l'échelle de rémunération des professeurs agrégés (CAERPA)

<b>Nombre de postes</b>	<b>2</b>
<b>Candidats inscrits</b>	<b>29</b>
<b>Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité</b>	<b>13</b>
<b>Candidats admissibles</b>	<b>4</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission</b>	<b>4</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission</b>	<b>2</b>
<b><u>Epreuves d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>06,44</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles</b>	<b>08,77</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible</b>	<b>08,31</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>7,10</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>9,86</b>
Note maximale	<b>10,97</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>5,78</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>7,69</b>
Note maximale	<b>9,29</b>
<b><u>Epreuves d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>10,80</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>12,01</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>11,25</b>
Moyenne des candidats admis	<b>12,5</b>
Note maximale	<b>13</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>10,35</b>
Moyenne des candidats admis	<b>11,52</b>
Note maximale	<b>13,64</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>09,79</b>
<b>Moyenne la plus élevée</b>	<b>10,82</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>10,40</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis</b>	<b>9,98</b>

## Avant-propos

En introduction de ce rapport, le jury souhaite adresser ses plus sincères félicitations aux dix lauréats de la session 2019. Il félicite également les candidats admissibles non retenus qui ont, dans leur très large majorité, fait preuve de qualités scientifiques et professionnelles d'un excellent niveau. Enfin, il encourage vivement l'ensemble des candidats qui se sont présentés à ce concours ainsi que ceux qui ambitionneraient de le faire à ne pas hésiter à renouveler leur candidature ou à s'inscrire pour la première fois.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique ont pour vocation de permettre à des enseignants de biochimie génie biologique en activité d'accéder au grade de professeur agrégé. Lors de cette session 2019, 147 candidats se sont inscrits et 60 d'entre eux se sont présentés aux deux épreuves d'admissibilité, soit un taux de présence de 40,8 %, confirmant une tendance à une diminution régulière constatée au cours des trois sessions précédentes, sessions 2018 (44,6 %), 2017 (49,6 %) et 2016 (53,4 %). A la lecture de ces valeurs, le jury incite fortement l'ensemble des candidats inscrits à, non seulement préparer, mais également passer les épreuves écrites de ces concours qui représentent un excellent exercice d'enrichissement des connaissances et compétences. Cette invitation forte à passer ce concours concerne véritablement tous les enseignants, quel que soit le secteur de spécialité des biotechnologies dans lequel ils dispensent leur enseignement.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique sont des concours difficiles qui nécessitent de la part des candidats un réel travail de préparation très approfondie que ce soit dans l'acquisition des contenus scientifiques attendus ou dans la prise en compte des attentes du jury pour chacune des épreuves. L'agrégation de biochimie génie biologique couvre des champs disciplinaires très vastes et variés tels que la biochimie, la microbiologie, l'immunologie, la biologie cellulaire, l'hématologie, la biologie moléculaire ou la physiologie humaine. Cette diversité de domaines, pour lesquels une expertise pointue est demandée pour espérer une quelconque chance de réussite, impose aux candidats une préparation rigoureuse et sérieuse. Cette dernière doit permettre aux candidats de développer, affirmer et/ou consolider leurs multiples compétences professionnelles ainsi que d'approfondir et enrichir leurs connaissances scientifiques et technologiques telles qu'exigées de la part d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique. Ce rapport de jury a pour vocation d'aider à cette préparation en précisant, notamment, les objectifs des différentes épreuves.

### Epreuves d'admissibilité

Les épreuves d'admissibilité conjuguent l'évaluation de connaissances scientifiques et technologiques à celle des qualités requises de la part d'un enseignant. Le jury attend donc que le candidat fasse la démonstration qu'il est capable de construire un développement structuré, rigoureux, concis et scientifiquement actualisé, tout en faisant preuve de grandes qualités didactiques et pédagogiques.

La première épreuve s'articule autour d'un ou plusieurs thèmes technologiques abordés dans leurs dimensions scientifiques et technologiques ainsi que pédagogiques. Afin de permettre au candidat l'identification du registre évalué par le jury et lever ainsi toute ambiguïté sur les attendus de chaque question, celles-ci sont respectivement identifiées par les lettres « ST » et « P ». Au cours de cette épreuve, le candidat doit faire la démonstration de ses capacités d'analyse et de réflexion ainsi que son aptitude à construire des enseignements de qualité.

La seconde épreuve mobilise les connaissances et compétences scientifiques du candidat qui doit élaborer un devoir de synthèse sur deux questions portant sur des domaines couverts par les champs de la spécialité. L'exercice est de ce fait exigeant et impose une préparation sérieuse de la part du candidat qui doit faire la démonstration du niveau et de l'actualisation de ses connaissances ainsi que de sa capacité à les organiser de manière didactique. Il nécessite notamment de cerner avec précision et justesse chaque énoncé proposé.

## Épreuves d'admission

La première épreuve d'admission s'inscrit dans une démarche de projet qui vise à construire une transposition pédagogique élaborée à partir d'une étude scientifique et technologique.

L'étude scientifique et technologique reproduit la situation d'un enseignant qui construit un enseignement contextualisé et actualisé en prenant appui sur divers procédés de biotechnologies (production de biens, recherche, R&D, analyse, contrôle qualité...) et en tenant compte de l'évolution des activités dans les laboratoires. L'étude doit faire la démonstration que le candidat est devenu « expert » dans le domaine qu'il a lui-même choisi. Dans cet objectif, le candidat s'emploie à approfondir ses savoirs scientifiques, technologiques et techniques en s'appuyant sur les activités réalisées au sein d'un laboratoire et d'une entreprise. Il peut également si nécessaire enrichir et compléter son étude par des données économiques et/ou des problématiques sociétales associées à des procédés biotechnologiques. Afin de garantir une adéquation de l'étude avec le contexte professionnel actuel des différents secteurs d'application des biotechnologies, le candidat peut avantageusement effectuer un stage massé ou perlé en entreprise ou en laboratoire. Le candidat doit porter une attention toute particulière sur le fait que cette démarche de projet doit prendre en compte les besoins de formation des élèves en lien avec la réalité du contexte du monde professionnel utilisant les biotechnologies. Ainsi, le candidat doit veiller à ne pas se laisser piéger par la construction d'une étude portant sur un procédé technologique, certes novateur, attractif ou moderne, mais déconnecté de la réalité des domaines professionnels dans lesquels s'insère nos élèves et étudiants.

Le dossier peut légitimement comporter deux parties :

- une étude scientifique et technologique que le candidat replacera dans son contexte, notamment en lien avec l'objectif pédagogique visé à l'origine du projet. Si la réalisation d'un stage en entreprise ou en laboratoire de recherche n'est en rien obligatoire, les dossiers construits à partir de telles expériences professionnelles, fort enrichissantes pour les candidats, portent une dimension factuelle, réaliste et actualisée qui semble être un élément très favorable ;

- une mise en application pour un niveau de classe donné, un référentiel, une progression choisie et justifiée. La problématique de la transposition des activités technologiques et techniques décrites sera abordée afin de prendre en compte les contraintes propres à un environnement de formation (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, sécurité...). Elle présentera les modalités de mise en œuvre (opérationnalisation) en lien avec les objectifs de formations ambitionnés, les activités effectuées par les étudiants, les documents supports de ces activités, les évaluations. Des aspects interdisciplinaires peuvent également très favorablement nourrir l'analyse des choix pédagogiques et opérationnels adoptés.

La seconde épreuve d'admission place les candidats dans la réalisation pratique d'activités technologiques. Elle peut ne pas se limiter à la seule mise en œuvre de protocoles opératoires et place également le candidat dans une dimension métier au travers de mises en situation. Cette épreuve est difficile pour plusieurs raisons. Tout d'abord, par sa durée de 8 heures. D'autre part, par le fait qu'elle couvre des domaines imposés et divers des biotechnologies qui demandent au candidat de mettre en œuvre des activités technologiques relevant de différents champs de nos spécialités. Les manipulations proposées permettent d'évaluer des compétences technologiques et techniques de base mais, de par leur diversité, obligent à une polyvalence, une adaptabilité et une aptitude à intégrer rapidement des protocoles opératoires parfois nouveaux pour certains candidats. Il est donc vivement conseillé aux futurs candidats de s'appropriier ou se réappropriier certains gestes techniques en amont de l'épreuve en se plaçant par exemple en situation d'« élève/étudiant ». En effet, le jury rappelle que l'acquisition pérenne d'une gestuelle technique précise et adéquate ne peut se faire sans sa mise en œuvre concrète et itérative. De même, il est conseillé aux candidats de s'informer sur les méthodologies et techniques récentes afin de pouvoir s'adapter rapidement.

Afin de prendre un repas, s'hydrater et se ressourcer, chaque candidat dispose d'une heure à prendre en une seule fois ou de façon bi-fractionnée. L'ensemble de l'épreuve couvre donc 9 heures dont 8 heures d'activités technologiques. Il est fortement recommandé aux candidats de ne pas faire le

mauvais choix d'une activité à « marche forcée », durant plusieurs heures consécutives, sans aucune respiration intellectuelle. Le phénomène dit de fringale ou d'épuisement intellectuel s'installant brutalement affecte alors profondément la lucidité indispensable pour mener à bien l'ensemble de l'épreuve.

Pour conclure, le jury espère sincèrement que ce rapport sera utile aux futurs candidats à l'agrégation interne et au CAERPA de biochimie génie biologique.

Jean-Marc RICORT  
Président du jury

# EPREUVES D'ADMISSIBILITE

Les sujets des épreuves d'admissibilité sont en ligne sur le site du Ministère : <http://www.devenirenseignant.gouv.fr>.

## Première épreuve

Durée : 6 heures

Coefficient : 1

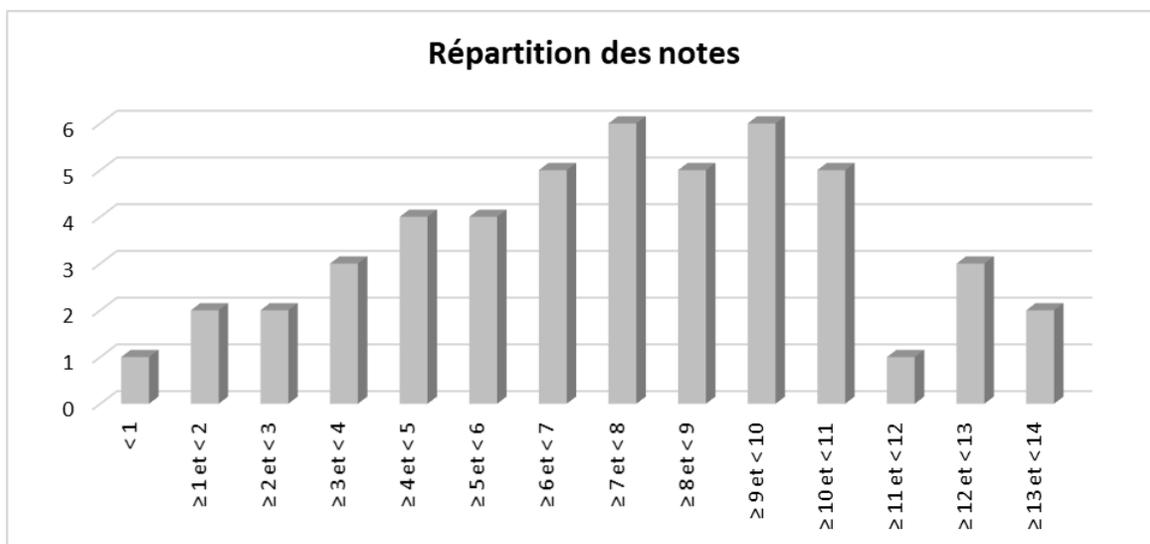
### Résultats de l'épreuve

Agrégation  
interne

49 candidats ont composé.

< 1	1	≥ 7 et < 8	6
≥ 1 et < 2	2	≥ 8 et < 9	5
≥ 2 et < 3	2	≥ 9 et < 10	6
≥ 3 et < 4	3	≥ 10 et < 11	5
≥ 4 et < 5	4	≥ 11 et < 12	1
≥ 5 et < 6	4	≥ 12 et < 13	3
≥ 6 et < 7	5	≥ 13 et < 14	2

La moyenne générale de l'épreuve est de 7,36. La meilleure note est de 13,80/20.

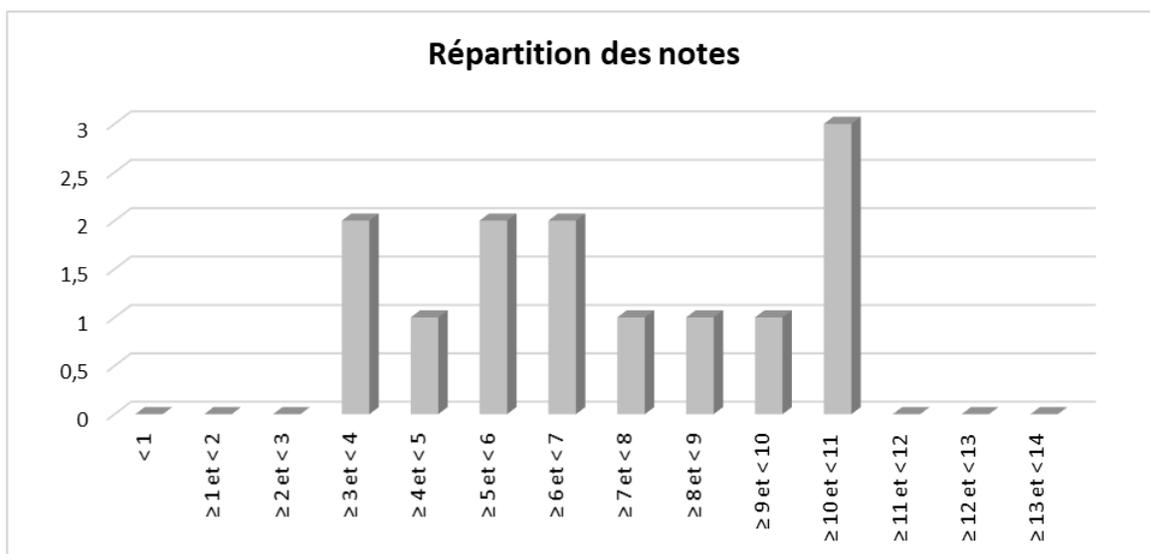


CAERPA  
agrégation

13 candidats ont composé.

< 1	0	≥ 7 et < 8	1
≥ 1 et < 2	0	≥ 8 et < 9	1
≥ 2 et < 3	0	≥ 9 et < 10	1
≥ 3 et < 4	2	≥ 10 et < 11	3
≥ 4 et < 5	1	≥ 11 et < 12	0
≥ 5 et < 6	2	≥ 12 et < 13	0
≥ 6 et < 7	2	≥ 13 et < 14	0

La moyenne générale de l'épreuve est de 7,10. La meilleure note est de 10,97/20.



## Rapport du jury

### Définition et structure de l'épreuve

L'épreuve prend appui sur des documents relatifs à une(des) problématique(s) biotechnologique(s) et comporte deux grands types de questions qui permettent d'évaluer :

- d'une part, la capacité du candidat à utiliser ses connaissances scientifiques et technologiques pour soit expliciter ou valider les solutions retenues, soit expliquer ou analyser les résultats expérimentaux obtenus ;
- d'autre part, les capacités du candidat à utiliser le(s) support(s) proposé(s) pour élaborer, à un niveau de formation déterminé, soit un exercice permettant l'évaluation des connaissances et compétences acquises par les élèves, soit une séance ou une séquence d'enseignement.

A ce propos, le candidat veillera à situer l'exercice dans un processus d'apprentissage et par rapport aux autres enseignements scientifiques ou technologiques associés.

Le sujet de la session 2019 était organisé en trois parties comportant chacune des questions mobilisant des connaissances scientifiques et technologiques (identifiées par les lettres ST) ainsi que des questions pédagogiques (identifiées par la lettre P).

### **Commentaire général**

Si certains candidats ont su produire un travail très intéressant sur les questions pédagogiques, une majorité, soit n'a pas traité ces questions, soit les a traitées de manière très incomplète (manque de contextualisation, de liant dans le déroulé de la séquence...). Le jury attire de nouveau l'attention des candidats sur le fait que ces questions pédagogiques nécessitent un temps important afin de bien s'appropriier les documents pour concevoir, dans un second temps, des exercices ou des documents de synthèse correctement structurés. L'investissement associé à la réalisation de ces questions explique le poids conséquent qui leur est toujours attribué dans le barème. Ainsi, cette année, ces questions représentaient à elles seules 31 % de la note finale.

Comme précisé dans la définition de l'épreuve, le sujet invitait à conduire plusieurs analyses de documents. Le jury rappelle qu'un travail d'analyse ne peut se résumer à une simple lecture des données mais que celui-ci demande une introduction, une présentation rigoureuse des résultats, en prêtant une attention toute particulière aux contrôles réalisés, et un raisonnement qui aboutisse à la formulation d'une hypothèse ou d'une conclusion pertinente. Trop de candidats se dispersent, ne hiérarchisent pas les informations ou s'engagent dans de très longs développements obscurs, inutiles voire erronés. Le jury apprécie les raisonnements clairs, synthétiques et hiérarchisés.

Le jury a pu apprécier le soin avec lequel la plupart des candidats ont rédigé leur copie. Cependant, ce ne fut pas toujours le cas et le jury déplore que certaines copies soient quasiment illisibles et que d'autres montrent un manque de soin suggérant un certain manque de considération pour le lecteur. Ainsi, une relecture attentive éviterait les fautes d'orthographe et de grammaire inacceptables pour des enseignants. Le jury a sanctionné les réponses fantaisistes voire totalement hors-sujet témoignant vraisemblablement d'un manque de connaissances.

### **1. Analyse de l'eau : développement d'un procédé de détection des métaux lourds par biocapteur à base d'organismes vivants**

Cette partie représentait 42 % de la note finale. Elle comportait une question pédagogique (P) et huit questions scientifiques ou technologiques (ST).

La question **ST1** demandait une prise de distance par rapport aux questions habituellement posées dans cette épreuve puisqu'elle faisait appel à une culture générale de l'éthique. Cette réflexion fait désormais partie de l'enseignement des biotechnologies et de la santé. Le jury apprécie que la plupart des candidats se soient prêtés à cette réflexion. Un souci particulier de synthèse était tout particulièrement attendu plutôt que des développements présentant parfois une longueur déraisonnable. Le jury regrette que la notion d'espèce soit utilisée trop souvent de façon erronée. Ainsi, il est difficilement concevable pour ce niveau d'expertise attendu d'affirmer que l'introduction d'un transgène dans le génome d'un organisme aboutit à la création d'une « nouvelle espèce ».

#### **1.1. Développement du biocapteur**

Concernant le vocabulaire, le jury a été surpris par des erreurs de maîtrise rigoureuse de celui-ci. Ainsi, le terme « gène » ne peut être utilisé pour désigner n'importe quelle séquence de nucléotides. D'autre part, la locution anglaise « gene promoter » ne se traduit pas autrement que par « promoteur du gène ». De même, il est fortement recommandé de veiller à éviter les anglicismes.

La question **ST2** demandait au candidat d'assimiler la démarche complexe utilisée pour la construction d'un vecteur d'expression et de la présenter sous forme d'un logigramme. Le candidat devait sélectionner les

informations pertinentes mais se garder de simplifier outre mesure. Le logigramme ne pouvait pas se résumer à une simple suite linéaire d'étapes.

Les questions **ST3** à **ST5** permettaient de vérifier la compréhension du fonctionnement du biocapteur. Certaines interprétations erronées ont été notées : fixation directe du métal lourd sur le promoteur ou présence d'une protéine de fusion métalloprotéine - DsRed. Le jury invite les candidats à vraiment prendre le temps de lire attentivement le sujet et les informations qu'il contient afin d'éviter les erreurs d'interprétation, notamment à partir de documents en langue anglaise.

## **1.2. Fonctionnement et performances du biocapteur**

La question **P1** a permis au jury d'apprécier les compétences d'illustration et de synthèse des candidats. Néanmoins, le jury a pu constater un défaut de lecture du sujet dans de nombreuses copies. En effet, il était clairement demandé de réaliser deux schémas présentant le fonctionnement du biocapteur. Ainsi, les candidats ayant présenté un diagramme ou une liste d'effets sans aucuns liens ont donc été pénalisés. Quant à ceux qui ont présentés un schéma de fabrication du biocapteur, quelle que fut la pertinence de leurs propos, ils n'ont pas pu être valorisés.

Les questions **ST6**, **ST7** et **ST8** étaient liées et portaient sur une analyse métrologique des résultats de détection des métaux lourds obtenus à l'aide du biocapteur. Cette analyse exigeait une utilisation précise du vocabulaire de métrologie employé (dont l'inexactitude pouvait introduire un biais important dans les réponses des candidats). Le jury encourage les candidats à se former dans ce domaine car il est essentiel d'utiliser les termes définis et harmonisés par les instances normatives internationales (VIM, ISO). Les notions de « précision », « seuil de sensibilité », obsolètes et portant à confusion, doivent être bannies des applications pédagogiques. Le jury attendait des candidats de réinvestir le vocabulaire préalablement défini pour interpréter les résultats présentés dans le document 3. Certains candidats se sont contentés de descriptions détaillées, certes souvent justes, mais qui leur ont fait perdre beaucoup de temps et qui ne présentaient que peu d'intérêt sans l'analyse métrologique associée. Les candidats qui ont su extraire les informations pertinentes de cette analyse ont pu conclure sur les limites du biocapteur par comparaison avec les données réglementaires du document 4, « ppm » étant équivalent dans ce contexte à « mg.L<sup>-1</sup> ».

## **2. L'eau de procédé en industrie pharmaceutique : amélioration du procédé de déminéralisation**

Cette partie représentait 30 % de la note finale et comportait deux questions pédagogiques (**P**) et trois questions scientifiques ou technologiques (**ST**).

La compréhension du procédé de déminéralisation nécessitait des connaissances de base de chimie. A ce propos, le jury constate de nombreuses lacunes dans ce domaine qui vont au-delà de la simple inversion de nomenclature des colonnes.

Pour répondre à la question **ST9**, certains candidats se sont contentés de paraphraser le document technique sans comprendre le principe même de l'échange, conduisant à des descriptions totalement erronées. Le jury a constaté dans de nombreuses copies la confusion entre le groupement fonctionnel donnant la charge de la résine et le contre-ion échangé donnant le nom de la résine (une résine cationique est donc chargée négativement pour échanger des cations). Les meilleures copies présentaient des schémas de colonne avec le contre-ion et l'ion échangé, se basant sur l'une des équations présentées dans le document 5. Par exemple : rétention des ions sodium sur la première colonne (cationique) en échange de l'ion hydronium, puis rétention de l'ion chlorure sur la deuxième colonne en échange de l'ion hydroxyde. Il était important également de montrer que les ions hydroniums et les ions hydroxydes sortant de chaque colonne redonnaient de l'eau. Pour la régénération, il était attendu d'introduire la notion de force ionique pour expliquer le remplacement des cations et anions fixés par l'ajout en excès d'une solution d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium.

Dans la question **ST10**, l'explication de l'évolution du pH qui permet de suivre la fuite ionique indiquant la nécessité de régénérer la colonne saturée a permis à certains candidats de montrer leur compréhension du principe parfois mal expliqué dans la question précédente.

La question **P2** imposait une application en STS mais laissait le choix de l'activité. Les candidats ayant fait le choix d'une activité de TD ou d'AT clairement détaillée ont été valorisés. Certains candidats ayant voulu faire preuve d'originalité sur l'activité ou le contexte se sont souvent trop éloignés de l'objectif professionnel des sections de technicien supérieur. A l'opposé, si une visite de l'installation de fabrication d'eau déminéralisée du lycée était intéressante, elle demeurait insuffisante, par elle seule, pour s'assurer de la compréhension du principe d'échange d'ion par les étudiants.

Dans l'élaboration d'une activité technologique, le jury s'étonne que de nombreux candidats se limitent à l'élaboration d'un schéma de protocole parfois absurde comme le suivi du pH suite à un adoucissement de l'eau. Le jury attend des candidats qu'ils présentent le déroulement envisagé de l'activité proposée, la liste du matériel et les documents mis à disposition des étudiants. Que ce soit en AT ou lors d'une séance de TD, le candidat doit présenter les questions posées aux élèves et, par voie de fait, les réponses attendues. Etant au centre de sa démarche d'enseignant, il est essentiel qu'il positionne l'objectif pédagogique et les moyens qu'il se donne pour l'atteindre.

La question **ST11** a souvent été incomplètement traitée. Si de nombreux candidats ont fait le lien entre l'augmentation de la résistivité et l'augmentation de l'efficacité de la déminéralisation par l'ajout d'une colonne à lit mixte, peu d'entre eux ont compris l'intérêt de cette colonne pour le fonctionnement en continu de cette installation.

La question **P3** était une question pédagogique et ne pouvait donc pas se résumer à une équation aux valeurs et un résultat, fut-il pour autant correct. Il était nécessaire d'introduire quelques explications par la décomposition du calcul et l'utilisation d'équations aux valeurs numériques et aux unités.

### **3. Traitement des effluents d'une brasserie**

Cette partie représentait 28 % de la note finale. Elle comportait une question pédagogique (**P**) et six questions scientifiques ou technologiques (**ST**).

La question **ST12** demandait de la part des candidats d'identifier, à partir du document fourni, les différentes précautions nécessaires à la réalisation de la mesure normalisée de la DBO5. Cette question, abordée par la quasi-totalité des candidats, a cependant fait l'objet d'un traitement lacunaire. Les précautions listées étaient souvent incomplètes ou bien mal justifiées.

La question **ST13** avait pour but d'aider les candidats dans l'analyse du fonctionnement du modèle de bio-pile proposé. La plupart des candidats ayant traité cette question ont su faire les bilans de matière dans les différents compartiments de manière acceptable.

Les questions **ST14** et **P4** portaient sur des aspects classiques du métabolisme microbien, importants dans les enseignements de microbiologie des différentes STS de notre spécialité. Les candidats ayant traité ces questions ont pour la plupart réussi à rappeler les notions sous-jacentes à une respiration anaérobie mais la question **P4** a souvent été, soit mal interprétée, soit mal réalisée. En effet, il s'agissait de compléter le schéma proposé avec les éléments nécessaires à la production d'énergie par la cellule et ne figurant pas sur le document proposé (chaîne de transport d'électrons, ATP synthase, production d'ATP). Le jury a également valorisé les propositions présentant un schéma bilan général reprenant les principaux concepts des respirations anaérobies et illustré par les éléments proposés dans le document. Le jury regrette qu'une part importante des candidats aient produit une copie du document proposé sans réelle valeur ajoutée.

Les questions **ST13** à **ST15** portaient sur la connaissance du fonctionnement d'un biofilm et consistaient à expliquer comment cette organisation particulière du micro-organisme d'intérêt permettait un fonctionnement efficace de la bio-pile proposée. Il semble que ces notions soient relativement bien assimilées par les candidats qui ont dans l'ensemble répondu à cette partie du sujet. La plupart ont réussi à faire le lien entre l'anode et son rôle d'accepteur d'électrons dans le métabolisme de *Geobacter* et ont su montrer à partir du document et des deux modèles proposés comment la présence de protéines conductrices dans la structure des pili bactériens permettait à des bactéries relativement éloignées de l'anode de lui transférer les électrons issus de leur chaîne respiratoire.

## Deuxième épreuve

Durée : 8 heures

Coefficient : 1

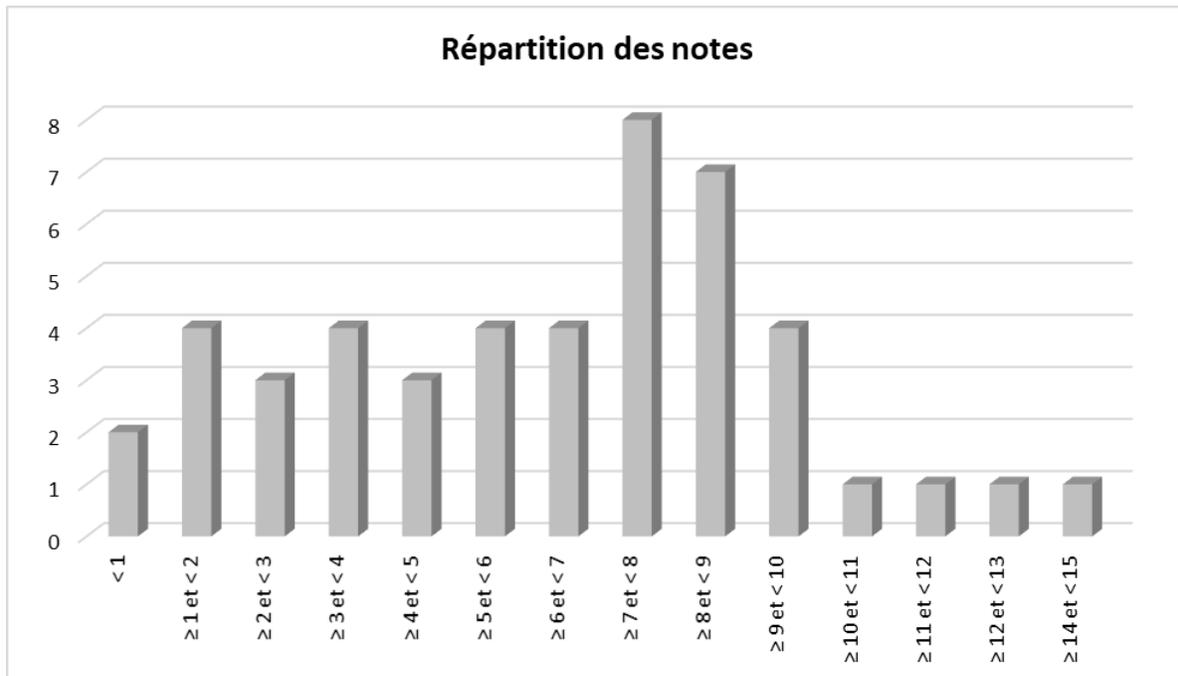
### Résultats de l'épreuve

Agrégation  
interne

47 candidats ont composé.

< 1	2	≥ 7 et < 8	8
≥ 1 et < 2	4	≥ 8 et < 9	7
≥ 2 et < 3	3	≥ 9 et < 10	4
≥ 3 et < 4	4	≥ 10 et < 11	1
≥ 4 et < 5	3	≥ 11 et < 12	1
≥ 5 et < 6	4	≥ 12 et < 13	1
≥ 6 et < 7	4	≥ 13 et < 14	1

La moyenne générale de l'épreuve est de 6,30. La meilleure note est de 14,75/20.

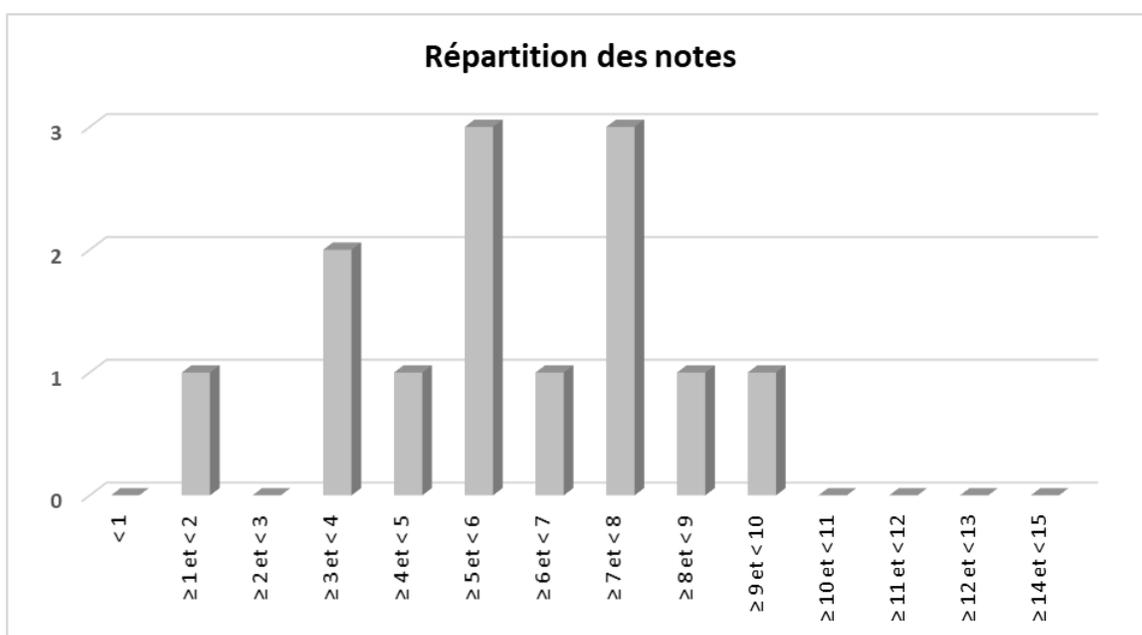


CAERPA  
agrégation

13 candidats ont composé.

< 1	0	≥ 7 et < 8	3
≥ 1 et < 2	1	≥ 8 et < 9	1
≥ 2 et < 3	0	≥ 9 et < 10	1
≥ 3 et < 4	2	≥ 10 et < 11	0
≥ 4 et < 5	1	≥ 11 et < 12	0
≥ 5 et < 6	3	≥ 12 et < 13	0
≥ 6 et < 7	1	≥ 13 et < 14	0

La moyenne générale de l'épreuve est de 5,78. La meilleure note est de 9,29/20.



## Rapport du jury

L'épreuve était composée de deux parties totalement indépendantes et pondérées de manière identique. Ainsi, une durée de travail équivalente pouvait leur être consacrée. Les sujets de synthèse proposés cette année permettaient de couvrir différents champs disciplinaires de notre spécialité et sollicitaient de la part des candidats des connaissances dans les domaines de la biochimie, de la biologie cellulaire, de la physiologie et des biotechnologies. Le positionnement des sujets dans ces domaines fondamentaux de nos disciplines permet d'illustrer la richesse et la diversité des thématiques abordées dans nos enseignements.

La nature de cette épreuve, tant par sa durée que par l'exercice de synthèse demandé, impose aux candidats une bonne gestion du temps imparti ainsi qu'une mobilisation efficace et pertinente de leurs connaissances. Il est donc vraiment essentiel que les candidats s'octroient un véritable moment de réflexion face aux intitulés des sujets afin, d'une part, de construire un plan logique tant dans sa forme que dans son contenu et, d'autre part, d'éviter toute digression hors-sujet. Le jury regrette de nouveau cette année que, hormis quelques exceptions, ce travail de réflexion ne semble pas avoir été correctement réalisé en amont, impactant cruellement l'élaboration des devoirs par la construction de développements souvent hors de propos et déconnectés des attentes des sujets. Ainsi, lors de la construction du plan mais aussi lors de la rédaction du devoir, le jury invite les

candidats à s'interroger à plusieurs reprises sur la pertinence de leurs propos et leur adéquation avec la question posée. En effet, pris certainement par le cours de leurs idées, il n'est pas rare de constater que certains candidats débutent assez correctement leur devoir puis s'égarer peu à peu dans des chemins de traverse déconnectés de la question initiale. Quelques candidats ont néanmoins réussi à construire des compositions de qualité, associant une réflexion pertinente et intégrée sur les questions proposées ainsi qu'une présentation de connaissances actualisées.

Le jury a apprécié la qualité de rédaction et de présentation de certaines copies rendant leur lecture fluide et agréable. Il rappelle à ce propos que si "le fond" représente la majorité du barème, "la forme" est également évaluée dans la mesure où elle est l'illustration des capacités pédagogiques des candidats. Ainsi, un texte aéré, un plan explicite, détaillé, rigoureux et pertinent, des transitions créant du lien entre les parties, des illustrations correctement légendées sont des attendus de base. Dans ce contexte, un candidat ayant une écriture difficile à déchiffrer est aimablement convié à porter une attention toute particulière à celle-ci au moment de la rédaction de son devoir afin d'en faciliter la lecture et l'évaluation.

Comme les années précédentes, le jury s'interroge quant au niveau de langage parfois bien trop faible ainsi que d'une faiblesse de rigueur scientifique dans les mots et expressions employées. Cet aspect représente pourtant un élément essentiel car tout mode de communication, et qui plus est celui de nos disciplines scientifiques, repose sur l'usage d'un vocabulaire précis qui souffre de l'usage d'approximations et de verbiages communs. Comme lors de la session précédente, le jury constate avec stupeur une dégradation importante de la qualité de l'orthographe et de la grammaire, rendant parfois très difficile la lecture des copies. Le jury est profondément attaché au fait que la maîtrise de l'orthographe demeure un prérequis incontournable pour un enseignant qui se doit d'être aussi exemplaire que possible envers ses élèves/étudiants.

Le jury rappelle également qu'un devoir doit contenir une introduction de qualité qui positionne correctement le sujet au sein de la problématique posée et présente la construction du devoir. Ce dernier doit également contenir une conclusion pertinente, point souvent très mal ou très maladroitement abordé par les candidats. Celle-ci peut aisément faire un très bref bilan des notions essentielles abordées et surtout proposer un (des) élargissement(s) en lien avec la thématique. Le jury regrette que, bien souvent, les élargissements proposés ne sont ni pensés, ni construits correctement, n'apportant alors aucune plus-value pertinente à la réflexion.

## **1<sup>ère</sup> question**

La première question de l'épreuve, « Les enzymes, outils biotechnologiques : de leur structure à leur activité », nécessitait une mobilisation de connaissances essentiellement dans les domaines de la biochimie et des biotechnologies. Néanmoins, elle mobilisait également le choix d'illustrations et de développements dans des domaines très variés tels que la physiologie, la biologie moléculaire, la biologie cellulaire, la microbiologie, ... Afin de ne pas omettre de points importants et donner à leur sujet toute l'exhaustivité nécessaire, les candidats devaient veiller à s'accorder un temps de réflexion opportun afin de mobiliser leurs connaissances et construire un plan pertinent. Celui-ci devait être élaboré de manière à montrer en quoi la structure des enzymes conditionne leur activité, quels sont les éléments structuraux à la base de l'activité enzymatique, quels sont les mécanismes capables de réguler/moduler l'activité enzymatique et enfin comment les propriétés de ces enzymes en font des outils utilisés et développés dans de nombreux domaines des biotechnologies.

Le jury s'est étonné qu'un tel sujet, abordant un domaine fondamental, ait donné lieu à des développements souvent incomplets, voire incorrects, reflétant par la même des connaissances pour le moins sommaires. Ainsi, certains candidats confondent site de liaison du substrat et site catalytique ou inversent les courbes associées aux notions d'inhibiteur compétitif et non compétitif dans la représentation graphique de Lineweaver-Burk.

Le jury rappelle que l'exercice ici demandé est un exercice de synthèse qui impose de faire la démonstration d'une maîtrise transversale et intégrée du sujet. A ce titre, toute approximation doit être évitée. De plus, comme il a déjà été à maintes reprises répété, la présentation de plusieurs exemples illustrant une seule et même idée n'apporte pas grand-chose, voire rien du tout, en termes de plus-value. Ainsi, la règle « une idée - un exemple » (bien justifié, illustré et argumenté) se suffit entièrement à elle-même. A ce propos, au vu de leur multiplicité, les exemples devaient être judicieusement choisis. Un choix redondant, voire erroné, générerait parfois un profond doute quant à la connaissance et à la compréhension de la définition d'une enzyme.

La rigueur des expressions et du vocabulaire est un élément qui doit mobiliser le candidat tout au long de l'épreuve. Une relecture immédiate, puis différée, est fortement recommandée afin d'éviter des formulations utilisant un vocabulaire inadapté (ex : "les enzymes issues de gènes stockés dans le noyau" ; "au cours de la PCR, des enzymes sont utilisées pour « récupérer » ce fragment d'ADN à amplifier") ou prêtant à confusion et questionnement de la part du jury telle que celle, très souvent retrouvée, mentionnant que, "comme les protéines, les enzymes ont une structure primaire". De même, les expressions, certes enjouées, mais néanmoins simplistes n'apportant rien au propos et éloignant de la rigueur scientifique doivent être omises (ex : "la célèbre Taq polymérase" ou "les enzymes, un merveilleux outil"). Le jury a malheureusement remarqué une dégradation importante de la qualité de l'orthographe par rapport aux sessions précédentes et rappelle que l'enseignant se doit d'être une valeur de référence également dans ce domaine. De plus, le jury a regretté que nombre de copies étaient dépourvues d'illustrations ou de tableaux et tient à souligner que ces supports visuels ou de synthèse sont des outils indispensables que chaque candidat doit savoir utiliser à bon escient afin d'accompagner son propos. Ces supports doivent être construits aussi rigoureusement que le texte qui les accompagne. Ainsi, le jury a regretté de constater que la plupart des candidats avaient une vision erronée de la représentation graphique illustrant la variation d'activité enzymatique en fonction de la température. Afin de parfaire la forme des copies, le jury invite tout candidat qui se sait avoir une écriture difficile à lire à redoubler d'effort le jour de l'épreuve de manière à permettre une lecture fluide de son travail.

Si l'évocation de la structure des enzymes s'imposait pour construire les fondamentaux du fonctionnement et de la régulation des enzymes, il est regrettable que celle-ci ait souvent été construite de manière très catalogue sans faire de lien avec la question posée et sans aucune vision intégrée de la problématique rendant alors l'exposé souvent plat et sans envergure. A ce propos, le jury a constaté avec étonnement que nombre de candidats indique que les protéines acquièrent une structure tridimensionnelle uniquement lors de l'acquisition de leur structure tertiaire ! D'ailleurs, un soin tout particulier devait être apporté aux schémas illustrant les différents niveaux de structure des enzymes afin d'éviter toute source de confusion ou de mauvaise interprétation. Au vu de l'intitulé du sujet, il s'avérait hors-sujet de faire une quelconque allusion aux mécanismes de synthèse des protéines. De même que toute digression sur les voies de signalisation, bien que potentiellement représentatives par ailleurs de la diversité des activités enzymatiques, était hors de propos dans le contexte de l'exercice demandé.

Le jury mentionne que le plan proposé ci-après n'a pas valeur de référence et que toute autre proposition de la part des candidats était toujours positivement appréciée du moment qu'elle permettait d'appréhender l'intégralité des points évoqués ci-après.

Une introduction permettait de définir le terme d' « enzyme » ainsi que les limites et les attentes du sujet. A ce propos, il était tout à fait possible de limiter son sujet aux enzymes protéiques du moment que la justification était correctement effectuée. Une première partie pouvait alors apporter des arguments expérimentaux montrant comment la structure des enzymes conditionne leur activité. Des expériences simples pouvaient alors être présentées (ex : variation du pH, de la température) permettant de faire un lien structure-propriété. Pouvait s'ensuivre un développement rappelant les différents niveaux de repliement des enzymes protéiques, les différents types de liaisons mises en jeu, la nécessité d'un repliement correct pour l'acquisition d'une activité enzymatique en lien avec la structure du site actif. La notion de complexe multienzymatique pouvait être aussi judicieusement abordée. Toutefois, tous ces éléments ne prenaient réellement de sens et de valeur que lorsque le candidat ne se limitait pas à un simple inventaire mais développait une vision transversale et intégrée entre les événements structuraux et la fonctionnalité des enzymes.

Une seconde partie pouvait ensuite présenter plus précisément le lien entre la structure et l'activité enzymatique. Il était tout d'abord attendu que le candidat explicite en quoi la structure d'une protéine participe pleinement aux caractéristiques de la cinétique des réactions. Ainsi, la création d'un environnement particulier dans lequel les réactifs sont bien orientés (diminution de la capacité de rotation du substrat, voire des atomes), l'augmentation de la probabilité de rencontre entre les réactifs (petite taille du site actif), la stabilisation de l'état de transition (formation d'un complexe enzyme-état de transition), la fragmentation du chemin réactionnel en étapes élémentaires, la spécificité de la réaction catalysée, ainsi que quelques exemples de mécanismes réactionnels pouvaient largement illustrer ce point. Ensuite, le devoir pouvait pertinemment faire le lien entre structure et spécificité vis-à-vis du substrat en développant la notion de complémentarité (large ou étroite), agrémentée d'exemples judicieusement choisis (spécificité d'un type de liaison chimique, d'un groupe de substrats, stéréospécificité...). Enfin, dans l'objectif d'apporter une vision intégrée

des mécanismes auparavant présentés, il était intéressant de montrer en quoi les propriétés structurales des protéines peuvent donner lieu à des mécanismes de régulation vis-à-vis du substrat notamment par l'existence de domaines de fixation de régulateurs allostériques ou d'inhibiteurs (compétitifs ou non) ainsi que par le jeu de modifications post-traductionnelles. Une liberté totale était laissée quant au choix des exemples dans la mesure où ceux-ci pouvaient provenir de tous les domaines de la biologie.

Comme suggéré par l'intitulé de la question, une troisième partie devait présenter en quoi les propriétés des enzymes permettent leur utilisation comme outils biotechnologiques. Trois sous-parties pouvaient alors être construites. La première sous-partie devait rappeler comment la nature biochimique des enzymes permet leur production et leur préparation. Des techniques de production (enzymes produites naturellement, enzymes recombinantes), d'extraction et purification, d'immobilisation (adsorption, fixation covalente, inclusion, confinement) ou encore de fixation de groupements réactionnels (conjugués) devaient être présentées. Au-delà d'une simple énumération des choses, il était attendu que les candidats fassent du lien entre ces différentes techniques et la structure des enzymes protéiques en présentant, entre autres, les avantages et inconvénients de chaque approche expérimentale présentée. La seconde sous-partie pouvait alors s'intéresser à l'utilisation des enzymes pour la production de biens via le développement de procédés industriels. Des applications de l'utilisation des enzymes dans des réacteurs discontinus (batch) ou continus (colonne), à lit fixe ou lit fluidisé, ainsi que pour l'élaboration d'OGM pouvaient être alors présentées. Enfin, la troisième sous-partie pouvait illustrer comment les enzymes sont utilisées pour la production de services. Les champs d'application étaient très vastes mais une vision recentrée sur la recherche médicale ou scientifique (Elisa, Western Blot, immuno-cytologie/immuno-histologie, génie génétique, identification bactérienne), les dosages enzymatiques (dosage de substrat ou dosage de l'enzyme selon des méthodes cinétique ou en point final) ainsi que sur leur utilisation en thérapeutique donnait une vision assez exhaustive du domaine.

Les meilleures copies répondaient au questionnement proposé par le sujet. Tout en faisant preuve d'un réel esprit de synthèse, elles étaient illustrées à l'aide d'exemples exacts, précis et pertinents puisés dans différents champs des biotechnologies.

## **2<sup>ème</sup> question**

La seconde question nécessitait une mobilisation de connaissances essentiellement dans les domaines de l'immunologie et de la biologie cellulaire. Le sujet devait permettre au candidat de montrer que le système immunitaire est l'un de nos principaux mécanismes de défense contre le cancer. En effet, les cellules cancéreuses expriment souvent des éléments caractéristiques à leur surface qui permettant aux cellules immunitaires de les reconnaître et de les détruire. Il était également attendu que le candidat traite aussi des stratégies des cellules cancéreuses leur permettant d'échapper au système immunitaire et ainsi de proliférer et se propager.

La construction du plan était suggérée dans l'intitulé de la question et les candidats en ont largement tenu compte sachant qu'un extrait de publication permettait également d'illustrer une stratégie d'immunothérapie.

Une première partie devait permettre de présenter les différents types de lymphocytes T et de restreindre volontairement le sujet aux lymphocytes T cytotoxiques (LTC). Le jury attendait une présentation des caractéristiques structurales des LTC : la structure du TCR, les différents clusters de différenciation. L'ontogénie des lymphocytes T8 devait ensuite être expliquée. Des connaissances scientifiques de base étaient indispensables à la construction du propos. En effet, bien que le sujet soit celui d'une agrégation, le candidat devait impérativement montrer sa maîtrise des concepts fondamentaux, élémentaires, avant de proposer des mécanismes plus précis, plus pointus dans le domaine du sujet. Il ne s'agissait pas pour le candidat de rester longuement sur le niveau du cycle terminal mais de s'appuyer sur ces connaissances pour montrer ensuite leur actualisation et faire la démonstration de son niveau d'expertise dans le domaine.

La deuxième partie devait permettre de faire le lien entre les mécanismes présentés dans la première partie et les mécanismes de reconnaissance d'une cellule tumorale par des cellules du système immunitaire. Les lymphocytes T cytotoxiques sont responsables de l'immunité cellulaire aboutissant à la mort de la cellule cible qui dans le cadre du sujet devait être restreint à la cellule tumorale. L'activation des LTC et leur mode d'action devaient donc être expliqués dans le cadre de la reconnaissance d'une cellule tumorale. La discussion des mécanismes moléculaires, des

interactions moléculaires entre les LTc et les cellules tumorales devaient être abordées notamment à travers la description des structures protéiques membranaires mises en jeu.

Enfin, une dernière partie devait permettre au candidat de montrer ses connaissances actualisées dans le domaine des stratégies antitumorales. S'agissant d'un domaine en pleine expansion, le jury avait toutefois proposé un document pour permettre au candidat de remplir en partie les objectifs de la dernière partie de la composition. Le candidat pouvait alors s'appuyer sur le document montrant l'utilisation des CAR T-cells et en expliquer le fonctionnement en rapport avec les mécanismes décrits dans le début de la composition. Le document permettait d'expliquer le mécanisme de transgénèse utilisé. Il devait au moins permettre au candidat de mettre en évidence un aspect important de la conception des CAR T-cells, à savoir le fait que ces cellules n'ont pas besoin du CMH pour reconnaître un antigène. La différence entre les trois générations de CAR T-cells devait être également analysée et présentée. Il n'y avait pas d'obligation à ce que le candidat traite l'exemple proposé dans le sujet. D'autres stratégies pouvaient tout à fait être présentées comme les TIL ou l'utilisation d'inhibiteurs des points de contrôle du cycle cellulaire. Ces apports de connaissances personnels, lorsqu'ils étaient présents, ont été valorisés par le jury.

Le jury a été surpris de constater qu'un nombre significatif de candidats n'a pas traité cette question ou laissait percevoir un niveau extrêmement faible en immunologie, domaine de la physiologie humaine pourtant incontournable dans notre discipline et enseigné en cycle terminal. L'immunothérapie a été mal comprise par une majorité de candidats dont les connaissances n'étaient visiblement pas suffisantes pour analyser le document proposé. Parmi les candidats ayant traité la question, le jury a noté beaucoup de copies hors-sujet présentant en détail l'immunité humorale à LB. Le jury a valorisé les candidats qui s'appuyaient sur des schémas explicites, bien légendés et illustrant de manière synthétique leur propos. Enfin, les copies montrant que le candidat avait actualisé ses connaissances, notamment dans le domaine de l'immunothérapie, ont été appréciées.

## **EPREUVES D'ADMISSION**

### **Première épreuve**

#### **Résultats de l'épreuve**

22 candidats, agrégation et CAERPA confondus, ont composé :

- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 18 ;
- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 16 ;
- 3 ont obtenu une note supérieure ou égale à 14 et strictement inférieure à 16 ;
- 5 ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14 ;
- 3 ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12 ;
- 5 ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10 ;
- 2 ont obtenu une note strictement inférieure à 8.

La moyenne générale de l'épreuve est de 12,00/20.

La moyenne des candidats admis est de 14,60/20.

La meilleure note est de 19,00/20

## Rapport de jury

Le jury tient très sincèrement à féliciter l'ensemble des candidats qui ont respecté l'esprit de l'épreuve, que ce soit dans le cadre de la démarche de projet ou dans celui de la présentation et de l'entretien avec le jury.

Dans le cadre de cette épreuve, le manuscrit peut légitimement comporter deux parties distinctes mais non déconnectées l'une de l'autre :

- une étude scientifique et technologique qui doit être correctement replacée dans son contexte, notamment en la positionnant en relation avec le projet pédagogique à l'origine du projet. Cette étude doit s'appuyer sur des données scientifiques et technologiques précises et actualisées dont les prolongements économiques et sociétaux peuvent être, si jugés intéressants, abordés ;

- une mise en application pédagogique pour un référentiel, un niveau de classe donné, une progression choisie et correctement argumentée. Cette transposition pédagogique doit prendre en compte concrètement les contraintes propres à un environnement enseignant (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, sécurité, ...). Afin de s'inscrire dans une démarche réaliste, elle peut avantageusement présenter les modalités de mise en œuvre, les activités effectuées par les étudiants, les documents support de ces activités ainsi que les modalités d'évaluation. Cette mise en application peut également faire appel à des aspects interdisciplinaires du moment que ceux-ci sont correctement justifiés et apportent réellement une plus-value à la démarche proposée. Toute construction artificielle déconnectée de la réalité du contexte professionnel visé doit être évitée.

### Remarques sur les dossiers

Le jury a tout particulièrement apprécié la qualité générale des dossiers que ce soit dans leur forme (figures, orthographe, syntaxe, construction et clarté du plan) ou dans leur fond. Dans l'ensemble, ces dossiers comportaient deux parties développées de manière relativement équilibrée : une partie scientifique et une transposition pédagogique en lien avec la première partie.

Le jury rappelle que la partie scientifique et technologique doit être rédigée à l'appui de données récentes de la littérature nécessitant un travail d'actualisation important de la part des candidats. Cette partie doit ainsi s'appuyer sur une bibliographie rigoureuse qui doit être présentée de manière formelle. A ce propos, le jury conseille de fortement limiter, voire éviter, l'utilisation de toute webographie dans la mesure où la pérennité et l'actualisation des sites internet ne sont pas toujours assurées. Cette partie scientifique et technologique doit faire la démonstration du niveau de grande expertise du candidat dans le domaine qu'il a lui-même choisi de présenter. A ce titre, les informations présentées ne peuvent souffrir de rester à un niveau trop superficiel. Un niveau approfondi est demandé et le « saupoudrage » fortement déconseillé. Le texte peut avantageusement s'appuyer sur des illustrations de qualité qui doivent réellement ajouter une réelle plus-value didactique et pédagogique au manuscrit. A ce propos, le jury rappelle que toute illustration doit comporter une légende soignée, correctement formulée et rigoureusement référencée si nécessaire. Le jury invite tous les candidats à bien veiller à la qualité (lisibilité après impression, polices et figures de taille suffisante) et à la pertinence de ces illustrations.

Bien que la partie scientifique et technologique soit placée en premier dans le rapport, l'exercice de démarche de projet doit toutefois positionner la transposition pédagogique comme finalité. La pertinence de l'apport et de la plus-value auprès des élèves/étudiants doit être au cœur de la réflexion et du questionnement de chaque candidat. Ainsi, les transpositions pédagogiques particulièrement appréciées ont très souvent été construites à partir d'une problématique d'enseignement trouvant une issue dans la réalisation d'un stage en entreprise ou en laboratoire de recherche. La situation inverse, qui consiste à effectuer un stage et une étude scientifique à partir desquels le candidat tente une mise en situation d'enseignement, se trouve être souvent artificielle ou réduite à une séance de travaux dirigés en fin de deuxième année de STS biotechnologies et se révèle alors souvent décevante. A ce titre, le jury insiste sur le fait que tous les niveaux d'enseignement, pré- ou post-baccalauréat, choisis pour la transposition pédagogique sont appréciés de manière totalement identique. De plus, le jury rappelle que le caractère totalement novateur de l'application pédagogique n'est absolument pas un prérequis indispensable.

Toutefois, au vu de l'évolution rapide des techniques et technologies mises en œuvre dans nos domaines de formation, le jury demeure attentif à toute proposition réaliste et rigoureuse permettant l'introduction pratique et/ou théorique de nouvelles approches auprès des élèves/étudiants dans la mesure où ils y seront potentiellement confrontés lors de leur insertion dans le monde professionnel (stage, emploi, ...). Néanmoins, le candidat devrait veiller alors à positionner ces nouvelles approches par rapport à celles préexistantes et démontrer les avantages concrets qu'elles apportent.

Il est important d'évoquer le fait que les candidats ayant obtenu les meilleures notes sont souvent ceux qui avaient pu mettre en œuvre, au moins en partie, la transposition pédagogique proposée ou qui avaient pu en discuter avec des collègues expérimentés. Ces éléments favorisent fortement la construction d'une transposition pédagogique dont la mise en application est ordonnée et hiérarchisée mettant clairement en évidence le déroulement de la (les) séquence(s) pédagogique(s), les connaissances fondamentales et pratiques apportées ainsi que les notions de sécurité et de coût de réalisation. Certaines applications se sont avérées être trop ambitieuses et déconnectées de la réalité du terrain. Elles se révèlent alors artificielles, voire totalement impossibles à mettre en œuvre. Le jury suggère de réserver parfois la priorité à des approches pratiques moins ambitieuses mais davantage réalistes et abouties. Néanmoins, le jury souligne qu'une transposition pédagogique de qualité ne peut se limiter à une simple analyse de documents par les élèves/étudiants.

Le jury rappelle que cet exercice de rédaction demande aux candidats de faire preuve de concision, d'esprit de synthèse et de faire des choix tant dans la structuration que dans les contenus présentés. Il convient notamment de vraiment limiter le nombre d'annexes au strict nécessaire. Néanmoins, la concision et la réalisation de choix ne doivent pas se faire au détriment d'éléments indispensables à la bonne compréhension de l'étude et à la justification correcte des objectifs pédagogiques.

### **Remarques sur la forme des présentations orales**

Le jury tient à féliciter l'ensemble des candidats qui ont construit dans leur très large majorité des supports diaporamas de très grande qualité mettant en évidence leurs qualités didactiques et pédagogiques. A ce propos, le choix de ne pas réaliser une présentation exhaustive de l'ensemble des informations contenues dans le dossier a toujours été très favorablement apprécié du moment que ce choix était pertinent et ne gênait pas la compréhension générale et l'intérêt de la démarche de projet. Afin de favoriser une écoute attentive et rendre le propos encore plus dynamique, le jury suggère aux candidats de construire des diapositives qui ne soient pas surchargées en texte. Ainsi, des supports iconographiques judicieusement choisis remplacent parfois utilement de longues phrases écrites que l'auditoire n'a pas toujours le temps de lire dans leur intégralité sans risquer de perdre le fil du récit. A ce propos, les supports iconographiques doivent être correctement référencés et de qualité et définition (i.e. nombre de pixels) suffisantes. De même, le choix des couleurs (i.e. contraste entre le texte et le fond) ainsi que la qualité et la quantité des animations doivent être mûrement réfléchis en amont de la présentation devant le jury. Ce dernier encourage également les candidats à s'affranchir d'un support papier au cours de leur prestation orale, celui-ci ayant souvent pour conséquence de rendre le propos moins fluide dans la mesure où l'orateur devient alors lecteur qui risque, en plus, de se perdre dans ses notes. A ce propos, le jury félicite les candidats qui ont, pour la plupart, adopté une attitude communicante permettant une transmission de leur message avec force et conviction. En effet, dans un concours de recrutement d'enseignants, les compétences en communication sont évidemment essentielles, tout comme l'attitude générale devant un auditoire. Ainsi, le jury félicite également les candidats de s'être, en grande majorité, prêtés avec enthousiasme et dans un état d'esprit positif au « jeu » des questions-réponses. Cet exercice, rendu parfois difficile du fait de l'enjeu et du stress associés, se veut être un moment d'échange et de réflexion avec pour vocation, non seulement d'évaluer les connaissances scientifiques et technologiques du candidat, mais également d'avoir son opinion, en tant que fruit de son expérience, sur des questionnements pédagogiques.

La durée de l'exposé de 30 minutes a été, sauf quelques rares exceptions, scrupuleusement respectée par les candidats. Conformément aux recommandations et rappels des modalités de l'épreuve communiqués en début de soutenance, tout candidat qui était susceptible de dépasser le temps imparti était aimablement

invité à conclure dans les plus brefs délais afin de respecter les règles d'équité élémentaires entre tous. Le jury invite donc tous les candidats à effectuer en amont plusieurs répétitions de leur présentation en s'aidant d'un chronomètre. D'autre part, le jury rappelle que cette présentation orale doit être à l'image des attendus de l'épreuve écrite et qu'un équilibre entre les deux parties (i.e. « scientifique » et « transposition pédagogique ») doit être, autant que possible, maintenu.

### **Remarques sur le fond des présentations orales**

Le jury tient là encore à féliciter la grande majorité des candidats qui a su globalement faire la démonstration de leur profond investissement dans la préparation de cette épreuve, de leur motivation et de leur probité intellectuelle.

A l'image des attendus du manuscrit, le jury a tout particulièrement apprécié lorsque les candidats présentaient de manière claire et explicite la démarche de projet qu'ils avaient suivie. Il était ainsi souvent très pertinent de rappeler la question pédagogique posée, centre de la démarche, avant de préciser le contexte scientifique de l'étude puis de présenter les solutions envisagées ou expérimentées afin d'apporter des éléments de réponse à cette question. Ainsi, étaient tout particulièrement appréciés les sujets ancrés sur une thématique intéressante, contextualisée et présentant des aspects technologiques novateurs en adéquation avec l'évolution des techniques tout en tenant compte, lors de la transposition pédagogique, des contraintes liées aux établissements d'enseignement. Le jury a particulièrement apprécié certaines présentations synthétiques et concises s'appuyant de façon pertinente sur un organigramme mettant en relief les objectifs, méthodologies, stratégies pédagogiques et démarches d'évaluation d'une séquence préalablement positionnée au sein d'une progression. En revanche, certaines études technologiques et techniques, impossibles à mettre en œuvre dans le contexte d'un établissement scolaire, ont donné lieu à des applications pédagogiques pour le moins peu opportunes. Ainsi, il peut apparaître quelque peu déroutant et décevant qu'un candidat ait construit son dossier scientifique sur les dernières technologies de séquençage à haut débit des génomes pour ne proposer ensuite qu'une migration de fragments d'ADN sur un gel d'agarose comme transposition pédagogique.

Il est tout particulièrement attendu d'un professeur agrégé qu'il soit capable de faire évoluer les pratiques au sein de son établissement. Cela implique la mise en œuvre de stratégies pédagogiques novatrices, pragmatiques mais également réalistes qui donnent sens aux apprentissages. Ces activités doivent être construites en appui sur une réalité non seulement professionnelle mais également économique pour l'établissement et transposables à un groupe d'élèves en lien avec les objectifs de formation et la réglementation en vigueur. Le jury a également été sensible à la prise en compte des contributions des autres disciplines, dans une approche pédagogique moderne et interdisciplinaire.

Le jury déplore néanmoins que certains candidats soient restés quelque peu en retrait et n'aient pas su mettre suffisamment en valeur les fondements de leur démarche. D'autre part, la thématique du projet étant laissée à l'entière discrétion du candidat, il est toujours questionnant lorsque l'un d'entre eux n'arrive pas à faire la démonstration, sur des questions fondamentales, de son expertise dans le domaine ou évoque des souvenirs bien trop lointains pour excuser son absence de réponse. En effet, en tant qu'acteur et porteur de son sujet, chaque candidat doit l'avoir étudié en profondeur. Il est ainsi attendu que le candidat soit capable d'expliquer et de justifier les méthodologies présentées, d'expliquer les techniques et les principes scientifiques associés, de situer ces nouvelles méthodologies par rapport à celles qui existent, mais également d'assurer l'analyse approfondie des résultats présentés. Il doit également avoir actualisé ses connaissances qui peuvent s'avérer effectivement plus ou moins récentes faisant ainsi la preuve de veille scientifique et technologique. Ainsi, le jury rappelle qu'il est préférable de choisir un projet scientifique dans un domaine que le candidat maîtrise et affectionne tout particulièrement plutôt que de se mettre inutilement en difficulté et en danger à vouloir développer une thématique qui ne lui est absolument pas familière. Ainsi, certains dossiers prenant appui sur des activités liées à un stage de formation en laboratoire ou sur la préparation d'une thèse ont été d'un niveau scientifique très satisfaisant. Il convient cependant de ne pas

oublier le fondement de l'épreuve qui s'inscrit dans la mise en œuvre d'un projet pédagogique. Il convient donc de rappeler que le support scientifique doit être au service du projet et non l'inverse.

A l'issue de la présentation, la discussion ouverte qui s'ensuit avec le jury a pour vocation de l'éclairer sur certains points de la démarche de projet, notamment sur son déterminisme et les solutions techniques adoptées, mais aussi d'explicitier, voire de préciser, certaines données scientifiques abordées ou décrites dans le dossier. Cette discussion permet également d'évaluer l'appropriation des démarches pédagogiques choisies ou conçues. En effet, par ce questionnement large, le jury souhaite également apprécier la maîtrise didactique de la discipline ou la position du candidat sur des éléments non mentionnés dans le dossier mais directement associés à la problématique.

Il est rappelé que la notation de cette épreuve prend également en compte, entre autres, les qualités d'expression et de communication, le sens de l'écoute active ainsi que l'adéquation des réponses aux questions. A ce propos, le jury apprécie tout particulièrement les candidats qui attendent la fin de la question pour initier leur réponse et qui prennent également un temps de réflexion pour s'assurer de la pertinence et de l'adéquation de leur démarche intellectuelle.

**AGRÉGATION DE BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIQUE**  
**Concours interne**  
**Session 2019**

**ÉPREUVES D'ADMISSION**  
**DEUXIÈME ÉPREUVE**

Durée : 8 heures

Coefficient : 1

-----

*Cette épreuve consiste à exploiter des documents techniques et pédagogiques relatifs à une séquence de « travaux pratiques » ou à une séquence à caractère expérimental, élément d'un processus d'apprentissage.*

*Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :*

- proposer et justifier les principes, méthodes et modes opératoires à mettre en œuvre et à dégager les concepts auxquels ils se rattachent*
  - réaliser, pour tout ou partie, selon la durée impartie, l'activité prévue.*
- 

Le sujet comporte trois parties indépendantes :

**PARTIE 1**

- A. Mini-préparation par deux méthodes** p 2
- B. Analyse de l'ADN plasmidique purifié par digestion enzymatique suivie d'une électrophorèse** p 2

**PARTIE 2**

- Dosage de la cathélicidine par technique ELISA** p 4

**PARTIE 3**

- A. Etude de l'activité bactériolytique des surnageants** p 5
- B. Mesure de l'activité lysozyme dans un contexte pédagogique : étude de faisabilité et de coût** p 5

**QUESTIONS DE SYNTHÈSE**

**p 6**

*Une attention particulière sera accordée à la traçabilité et à la présentation de tous les résultats expérimentaux.*

Les peptides antimicrobiens sont des peptides d'origine naturelle, généralement constitués de 12 à 50 résidus d'acides aminés, ayant des propriétés antibiotiques. Les peptides antimicrobiens sont produits aussi bien par les plantes que par les insectes, les mammifères ou les virus et agissent comme défense contre les maladies provoquées par divers microorganismes.

Dans le cadre d'une démarche de production *in vitro* d'un peptide antimicrobien, la cathélicidine, la séquence murine de son ADNc a été clonée dans un vecteur d'expression. Ce vecteur recombiné a servi à transformer une souche d'*E. coli* résistante à ce peptide. Trois clones ont été isolés. Après contrôle des constructions géniques obtenues (**partie 1**), le peptide a été produit et purifié à partir de surnageants de culture. Son expression a alors été contrôlée (**partie 2**) et son activité bactériolytique évaluée (**partie 3**).

Les trois parties peuvent être réalisées indépendamment les unes des autres. L'ordre de réalisation des manipulations est laissé au choix des candidats.

## **PARTIE 1**

### **A. Mini-préparation par deux méthodes**

On souhaite vérifier la construction du vecteur recombiné après son introduction dans les cellules compétentes. Pour cela, trois clones (C1, C2 et C3) ont été repiqués à partir du milieu d'isolement. On se propose ici de réaliser une mini-préparation de l'ADN plasmidique de ces trois clones par deux méthodes différentes, de contrôler la pureté de ces extractions par dosage à l'aide d'un spectrophotomètre microvolume Nanodrop™, puis de vérifier la conformité de leur construction par la réalisation d'un profil de restriction.

#### **Mise en œuvre**

- 1.1 Extraire l'ADN plasmidique des trois cultures bactériennes fournies selon les deux modes opératoires proposés (**documents 1 et 2**).
- 1.2 Réaliser, à l'aide d'un spectrophotomètre microvolume Nanodrop™, les opérations d'usage pour contrôler la qualité des ADN purifiés (**document 3**).

#### **Questions d'exploitation**

- 1.3 Expliciter le rôle des différentes régions de la construction génique du peptide d'intérêt introduite dans le vecteur (**document 4**).
- 1.4 A l'aide des résultats expérimentaux obtenus, réaliser une analyse comparative des deux techniques d'extraction utilisées.
- 1.5 Proposer une ou plusieurs hypothèses permettant d'expliquer les éventuelles différences obtenues.

### **B. Analyse de l'ADN plasmidique purifié par digestion enzymatique suivie d'une électrophorèse**

#### **Mise en œuvre**

- 1.6 Déterminer la composition du milieu réactionnel de digestion enzymatique. Mettre en œuvre cette digestion pour l'ensemble des extraits (**document 5**).

1.7 Réaliser l'électrophorèse des extraits digérés (**documents 6 et 7**).

**Questions d'exploitation**

1.8 Estimer la taille totale de l'insert (**documents 4 et 13**). Expliciter la démarche suivie pour arriver à cette réponse sous la forme d'un logigramme synoptique succinct.

1.9 Analyser les profils de restriction obtenus afin de conclure sur la qualité des trois clones choisis.

1.10 Justifier le choix de la technique la plus adaptée pour réaliser une étape de criblage des colonies obtenues après transformation.

## PARTIE 2

### Dosage de la cathélicidine par technique ELISA

Les trois clones C1, C2 et C3 ont été mis en culture en bioréacteur afin de produire de la cathélicidine. Trois surnageants SN1, SN2 et SN3 ont été obtenus à partir des clones C1, C2 et C3.

L'objectif de cette partie est de doser la cathélicidine dans ces trois surnageants. Dans les conditions de production, la concentration maximale de la cathélicidine dans les surnageants est de  $600 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Le mode opératoire du dosage de la cathélicidine par technique ELISA est fourni dans le **document 8**.

### Conception et mise en œuvre

2.1 Concevoir un protocole afin de doser la cathélicidine dans chaque surnageant :

- Construire le tableau de réalisation de la gamme d'étalonnage.
- Indiquer la démarche mise en œuvre pour doser les échantillons.
- Présenter les témoins réalisés : composition qualitative et quantitative.

2.2 Mettre en œuvre le protocole proposé.

- **Appeler un examinateur lors de la réalisation de la gamme.**

2.3 Joindre le plan de la plaque réalisée avec les résultats obtenus.

### Questions d'exploitation

2.4 A partir du mode opératoire, indiquer le principe de la technique ELISA utilisée et expliciter le rôle de chacune des étapes. En déduire comment le signal mesuré varie en fonction de la concentration de la cathélicidine.

2.5 Préciser le(s) rôle(s) des témoins réalisés.

2.6 Déterminer, à l'aide de l'outil informatique, la concentration de la cathélicidine dans les surnageants de culture en  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Présenter la démarche suivie.

2.7 Analyser les résultats obtenus.

La présentation et la mise en œuvre des techniques ELISA sont des fondamentaux dans de nombreuses formations pré et post-baccalauréat. Dans ce cadre, un enseignant souhaite mettre en œuvre avec ses élèves le protocole du **document 8**. Néanmoins, il ne dispose pas d'un budget suffisant pour l'achat de l'ensemble de ces réactifs. Il dispose en revanche, dans l'établissement, des réactifs indiqués dans le **document 9**.

2.8 Proposer et justifier les adaptations réalisées de façon à mettre en œuvre un dosage du même type à l'aide de la matière d'œuvre disponible dans l'établissement.

## PARTIE 3

### A. Etude de l'activité bactériolytique des surnageants

La cathélicidine a une action lytique sur des bactéries Gram-positives qui peut être mise en évidence en utilisant le coffret de dosage du lysozyme dont la fiche technique est fournie dans le **document 10**. L'objectif de cette partie est d'évaluer l'activité lytique des surnageants de cultures bactériennes SN1, SN2 et SN3.

#### Conception et mise en œuvre

- 3.1 Rédiger le mode opératoire du dosage de l'activité lytique d'un surnageant en tenant compte des adaptations listées dans le **document 11**. Expliquer la préparation du témoin positif.
- 3.2 Mettre en œuvre ce dosage sur les trois surnageants de cultures de bactéries mis à votre disposition.

#### Questions d'exploitation

- 3.3 Présenter et commenter les résultats obtenus.

### B. Mesure de l'activité lysozyme dans un contexte pédagogique : étude de faisabilité et de coût

Dans le cadre d'activités technologiques visant à mesurer l'activité du lysozyme, on envisage de remplacer la préparation de *Micrococcus lysodeikticus* du coffret commercial (MC) par une suspension préparée à partir de souches (MS et MA) en culture sur milieu solide.

- La première option consiste à utiliser une souche *Micrococcus luteus* présente dans le soucier du lycée (MS) et utilisée habituellement dans des activités technologiques de microbiologie.
- La seconde option est d'utiliser la souche *Micrococcus luteus* ATCC® 4698 (MA) préalablement revivifiée (**document 12**).

Les souches MS et MA sont présentées sur gélose trypticase soja et ont été cultivées pendant 48 h à 30 °C.

#### Conception et mise en œuvre

- 3.4 Effectuer les tests d'orientation pour les deux souches MS et MA.
  - **Appeler un examinateur pour faire valider les observations et les comptes rendus.**
- 3.5 Préparer des suspensions cellulaires à partir des cultures MS et MA. Effectuer une mesure de l'activité du lysozyme sur ces suspensions ainsi que sur celle de MC à l'aide du mode opératoire établie à la question 3.1 et d'une solution de lysozyme à 2 mg·mL<sup>-1</sup>.

#### Questions d'exploitation

- 3.6 Présenter puis comparer l'ensemble des résultats obtenus pour les souches MS et MA à celui obtenu pour la souche MC.
- 3.7 En intégrant une analyse des coûts, justifier le choix de remplacer, ou non, l'utilisation du lyophilisat du coffret commercial (MC) par celle d'une souche conservée (MS et/ou MA).

## QUESTIONS DE SYNTHÈSE

---

1. Mettre en relation l'ensemble des résultats obtenus dans les trois parties pour chacun des trois clones.
2. Emettre une ou plusieurs hypothèse(s) expliquant les résultats obtenus pour chacun des trois clones.
3. Justifier le choix du clone le plus adéquat dans l'optique d'une production de cathélicidine à l'échelle industrielle.

## Document 1 : mini-préparation par méthode manuelle

### Fiche protocole

#### Réactifs

Tubes de 5 mL de cultures bactériennes **C1**, **C2**, **C3** : valeurs de  $DO_{600\text{ nm}}$  indiquées en début d'épreuve

Tube de 1,2 mL de tampon de prélyse = **TEG** (stérile) : Tris-HCl 25 mmol·L<sup>-1</sup> pH 8 ; glucose 50 mmol·L<sup>-1</sup> ; EDTA 10 mmol·L<sup>-1</sup>

Tube de 1,2 mL de solution de lyse = **NaOH-SDS** : NaOH 0,2 mol·L<sup>-1</sup> ; SDS 1 %

Tube de 1,2 mL de solution de neutralisation-précipitation = **KAc5.5** (K<sup>+</sup> 3 mol·L<sup>-1</sup> ; acétate 5 mol·L<sup>-1</sup>; pH 5,5)

Tube de 10 mL d'**isopropanol**

Tube de 10 mL d'**éthanol 70 %**

Tube de 0,5 mL de **TE-RNase** = RNase A à 100 µg·mL<sup>-1</sup> en tampon Tris-EDTA (TE)

#### Mode opératoire générique

**Toutes les centrifugations ont lieu à 12 000 tr·min<sup>-1</sup> en micro-centrifugeuse.**

##### 1- Préparation de la suspension bactérienne

- Centrifuger 1 mL de culture bactérienne pendant 2 minutes.
- Remettre le culot en suspension dans 200 µL de TEG.

##### 2- Lyse alcaline

- Ajouter 200 µL de NaOH-SDS.  
Incuber **exactement 5 minutes à température ambiante.**
- Ajouter 200 µL de KAc5.5 glacé puis mélanger immédiatement et délicatement par retournements.
- Centrifuger 10 minutes et récupérer le surnageant.

##### 3- Précipitation de l'ADN à l'isopropanol

- Ajouter 0,7 volume d'isopropanol au surnageant.
- Homogénéiser et incuber 15 minutes à 4 °C.
- Centrifuger 20 minutes à température ambiante.

##### 4- Lavage et resuspension du culot d'acides nucléiques

- Laver le culot avec 0,5 mL d'éthanol 70 % froid puis centrifuger 10 minutes.
- Sécher le culot 10-15 minutes à l'air (près d'un bec).
- Dissoudre le culot dans 50 µL de TE-RNase et incuber 15 minutes à 37 °C.

## Document 2 : mini-préparation par l'utilisation d'un coffret commercial extrait du GenElute Plasmid Miniprep Kit, SIGMA®

### Réactifs

Tubes de 5 mL de cultures bactériennes **C1**, **C2**, **C3** : valeurs de  $DO_{600\text{ nm}}$  indiquées en début d'épreuve

Tube de 0,7 mL de « *resuspension solution* » = **RS** : tampon isotonique + RNase

Tube de 0,7 mL de « *lysis solution* » = **LS** : NaOH + détergent

Tube de 1,2 mL de « *neutralization solution* » = **S3** : tampon acétate

Tube de 1,7 mL de « *column preparation solution* » = **CPS** : tampon de préparation des colonnes

Tube de 2,5 mL de « *wash solution* » = **WS** : éthanol + tampon MOPS

Tube de 0,4 mL de « *elution solution* » = **ES** : tampon Tris-EDTA

## Experienced User Protocol

*All spins at ;12,000 3 g, except as noted.*

### 1 Harvest & lyse bacteria

- Pellet cells from 1–5 ml overnight culture *1 minute* (1 ml from TB or 2xYT; 1–5 ml from LB medium). Discard supernatant.
- Resuspend cells in 200  $\mu\text{l}$  Resuspension Solution. Pipette up and down or vortex.
- Add 200  $\mu\text{l}$  of Lysis Solution. Invert gently to mix. Do not vortex. Allow to clear for :5 minutes
- \* *Prior to first time use, be sure to add the RNase A to the Resuspension Solution.*

### 2 Prepare cleared lysate

- Add 350  $\mu\text{l}$  of Neutralization Solution (S3). Invert 4–6 times to mix.
- *Pellet debris 10 minutes at max speed.*

### 3 Prepare binding column

- Add 500  $\mu\text{l}$  Column Preparation Solution to binding column in a collection tube.
- *Spin at  $\geq 12,000 \times g$ , 1 minute.* Discard flow-through.

### 4 Bind plasmid DNA to column

- Transfer cleared lysate into binding column.
- *Spin 30", 1 minute.* Discard flow-through.

### 5 Wash to remove contaminants

- *Optional (EndA<sup>+</sup> strains only):* Add 500  $\mu\text{l}$  Optional Wash Solution to column. *Spin 30", 1 minute.* Discard flow-through.
- Add 750  $\mu\text{l}$  Wash Solution to column. *Spin 30", 1 minute.* Discard flow-through.
- *Spin 1 minute* to dry column.
- \* *Prior to first time use, be sure to add ethanol to the concentrated Wash Solution.*

### 6 Elute purified plasmid DNA

- Transfer column to new collection tube.
- Add 100  $\mu\text{l}$  Elution Solution. *Spin 1 minute.*
- \* *If a more concentrated plasmid DNA prep is required, reduce the elution volume to a minimum of 50  $\mu\text{l}$ .*

### Bacterial culture



### Pure Plasmid DNA

## Document 3 : notice d'utilisation d'un spectrophotomètre microvolume Nanodrop™ ND 1000

### **Le NanoDrop™ ND 1000 permet le dosage en UV d'ADN, d'ARN et de protéines sur des microvolumes de solution.**

Pour des mesures fiables :

- il faut s'assurer de l'absence de contamination par l'échantillon précédent,
- le volume aliquote déposé doit être représentatif de la solution à doser,
- le composé à doser (ADN plasmidique, produit de PCR...) doit avoir été au préalable purifié.

La mesure ne se faisant pas dans des conditions stériles, il faut le cas échéant préparer stérilement un volume aliquote, de 4 µL par exemple.

### **Remarques sur l'appareil**

- La mesure de l'absorbance ne dépend pas du volume déposé mais de la bonne formation de la colonne de liquide. Si la colonne ne se forme pas, la mesure ne sera pas fiable.
- La mesure d'absorbance est fiable si elle se situe entre les deux limites d'absorbance du ND 1000 :
  - limite inférieure ( $A=0,02$  équivalent à  $1,5 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  d'ADN db ou d'ARN)
  - limite supérieure ( $A=75$  équivalent à  $3700 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  d'ADN db ou  $3200 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  d'ARN).
- La variabilité maximale de l'absorbance due à l'appareil est de 2 %.  
Une variabilité supérieure indique une mauvaise homogénéisation et/ou une mauvaise dissolution.

### **Mode opératoire / bonnes pratiques**

- ***En début de mesures, faire le blanc contre le solvant ou le diluant de l'ADN à doser.***

---

0. Analyser la solution de solvant / diluant comme un échantillon et vérifier l'horizontalité du spectre.

Dans le cas où celui-ci n'est pas horizontal, recommencer autant de fois que nécessaire (refaire le blanc uniquement si nécessaire).

1. **Avant** la mesure : renseigner les noms de l'ADN dosé et du manipulateur.
2. Homogénéiser soigneusement l'échantillon d'ADN à prélever.
3. Déposer **1,5 µL à 2 µL** de votre solution contenant les acides nucléiques.
4. Lire l'échantillon en vérifiant la bonne formation de la colonne de liquide.
5. Répéter la procédure à partir de l'étape n°2 tant que ne sont pas obtenus **2 essais cohérents**.
6. Entre chaque mesure : nettoyer les 2 surfaces de lecture (piédestaux inférieur et supérieur) avec un papier absorbant propre ; déposer éventuellement 3 µL d'eau distillée stérile, abaisser le bras puis essuyer.

- 
- ***A la fin de vos mesures, nettoyer les 2 surfaces de lecture avec de l'eau distillée.***

### Données complémentaires (source : Ozyme.fr)

- Masse unitaire d'un vecteur d'environ 3000 pb, en un seul exemplaire par cellule, pour une  $DO_{600nm}$  de 1, un volume de 1 mL de culture et une hypothèse de 100 % de rendement d'extraction : 4,5 ng.
- Nombre moyen par cellule de copies de pUC18 ou de construction dérivée de ce vecteur : 200.

### Contrôles qualités

- Equivalence entre valeur de l' $A_{260nm}$  et concentration massique de l'acide nucléique :

	$A_{260nm}$	Concentration massique ( $ng \cdot \mu L^{-1}$ )
ADN double brin (db)	1	50
ADN simple brin (sb)	1	33
ARN	1	40

- Pureté de l'échantillon :

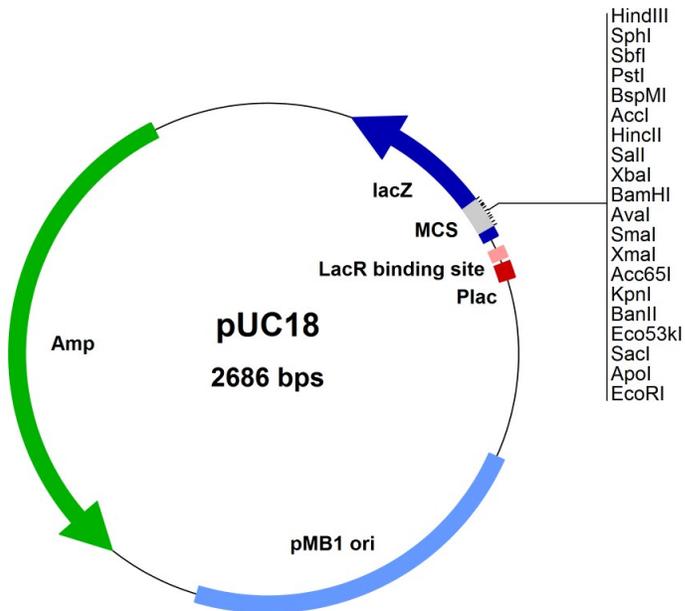
	Fourchette acceptable	
	Min	Max
<b>1<sup>er</sup> indicateur de pureté : rapport <math>A_{260nm}/A_{280nm}</math></b>		
ADN	1,8	2,0
ARN	2,0	2,2
<b>2<sup>ème</sup> indicateur de pureté : rapport <math>A_{260nm}/A_{230nm}</math></b>		
ADN ou ARN	2,0	2,2

Remarque : plusieurs contaminants absorbent à 230 nm. Ils proviennent soit de l'échantillon, soit des réactifs utilisés lors de la purification.

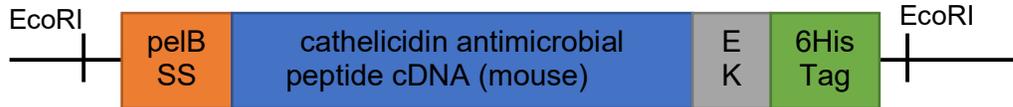
Exemples : le phénol, l'isothiocyanate de guanidine, les carbohydrates, les peptides, l'acide humique, l'urée, l'EDTA, les polysaccharides...

## Document 4 : éléments de la construction génique réalisée

### A. Carte du vecteur de clonage pUC18



### B. Construction génique du peptide d'intérêt introduite dans le vecteur



**peIB SS** : 22 N-ter amino acids from peIB leader sequence

**EK** : enterokinase cleavage site (DDDDK)

**6His Tag** : étiquette composée de 6 résidus d'histidine successifs

## Document 5 : analyse des purifications par digestion enzymatique

### Fiche protocole

#### Réactifs

Tube de 10 µL de solution d'enzyme de restriction **EcoRI** à 10 U·µL<sup>-1</sup>

Tube de 20 µL de solution **tampon 10 X**

Tube de 100 µL d'eau qualité biologie moléculaire **H<sub>2</sub>O BM**

#### Mode opératoire

1. Réaliser la digestion dans un microtube
  - Volume de mini préparation = suffisant pour digérer entre 300 et 500 ng d'ADN
  - Quantité d'enzyme EcoRI = 10 U
  - Volume total du mélange réactionnel = 20 µL
2. Incuber à 37 °C pendant 30 min.

## Document 6 : électrophorèse en FlashGel®

### Fiche protocole

#### Donnée

Sensibilité de visualisation d'une bande d'ADN : 5 ng

#### Réactifs

Tube de 20 µL de **tampon de charge 6 X** (EDTA 20 mmol·L<sup>-1</sup>, glycérol 50 %, bleu de bromophénol 0,1 %, pH 8)

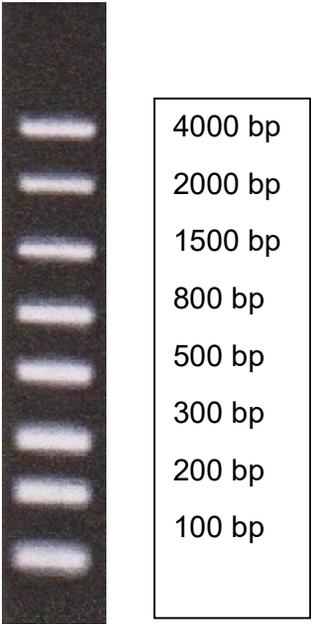
Marqueur de taille préparé en tampon de charge : 100 pb à 4 000 pb FlashGel® DNA Marker (**document 7**)

#### Mode opératoire

1. Préparer l'échantillon à déposer : 10 µL de digestat et un volume de tampon de charge adéquat (concentration finale 1 X ou 2 X).
  2. Déposer 5 µL de la préparation dans un puits du gel.
  3. Vérifier que la cassette est bien insérée dans l'appareil.
  4. Faire migrer le gel (ddp 220 V) pendant 5 à 7 minutes.
- Prendre une photographie et effectuer la numérisation du gel.

**Document 7 : FlashGel® DNA Marker (100 bp - 4000 bp)**

100 bp to 4000 bp FlashGel® DNA Marker  
run on a 1.2 % FlashGel® Cassette



## Document 8 : dosage de la cathélicidine par technique ELISA

### Fiche protocole

#### Donnée

Domaine d'exploitation : 0,14 - 100 ng·mL<sup>-1</sup>

#### Matériel et réactifs

1 microplaque dont les cupules des lignes A, B et C ont été préalablement sensibilisées par un anticorps anti-cathélicidine et dont la ligne D a été uniquement saturée avec de la SAB

Flacon de 70 mL de tampon **PBS-tween**

Flacon de 10 mL de tampon **PBS**

Tube de 2 mL de solution de **conjugué** (cathélicidine couplée à la phosphatase alcaline et diluée au 1/1000)

Tube de 4 mL de solution de **pNPP** à 1 mmol·L<sup>-1</sup>

Tube de 2 mL de solution de **NaOH** à 5 mol·L<sup>-1</sup>

Tube de 1 mL de solution étalon de **Cathélicidine à 200 ng·mL<sup>-1</sup>**

Tube de 0,5 mL de surnageant **partie 2 SN1**

Tube de 0,5 mL de surnageant **partie 2 SN2**

Tube de 0,5 mL de surnageant **partie 2 SN3**

#### Mode opératoire

**Les plaques fournies ont été préalablement préparées selon le protocole suivant :**

- Introduire 100 µL d'anticorps anti-cathélicidine dans les cupules des lignes A, B et C.
  - Incuber 2 h à 37 °C puis une nuit à 4 °C.
  - Laver 3 fois avec 200 µL de tampon PBS-tween.
  - Introduire 100 µL de solution de SAB à 3 % en tampon PBS.
  - Incuber 15 minutes à 37 °C.
1. Préparer la gamme d'étalonnage et les échantillons.
    - **La gamme d'étalonnage sera réalisée en présence d'un examinateur.**
  2. Pour chaque cupule :
    - Laver 3 fois avec 200 µL de tampon PBS-tween.
    - Introduire 50 µL de solution à tester.
    - Introduire 50 µL de conjugué.
  3. Homogénéiser sur agitateur rotatif horizontal pendant 1 minute à température ambiante.
  4. Incuber 1 h à 37 °C.
  5. Laver 3 fois avec 200 µL de tampon PBS-tween.
  6. Ajouter 100 µL de pNPP.
  7. Incuber 5 minutes à 37 °C.
  8. Ajouter 50 µL de NaOH.
  9. Mesurer les absorbances à 405 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque contre l'air.

## **Document 9 : quelques réactifs à disposition dans l'établissement**

Anti-Bovine IgG (whole molecule)-Alkaline Phosphatase antibody produced in rabbit

Anti-Human IgG ( $\gamma$ -chain specific)-Alkaline Phosphatase antibody produced in goat

Anti-Mouse Polyvalent Immunoglobulins (G, A, M)-Peroxidase antibody produced in goat

Anti-Rabbit IgG (whole molecule)-Alkaline Phosphatase antibody produced in goat

Anti-Bovine Albumin antibody produced in rabbit

Anti-Human Albumin antibody produced in goat

Albumin from human serum

Bovine Serum Albumin

IgG from rabbit serum

Alkaline phosphatase

$\beta$ -galactosidase

ONPG

pNPP

PBS

PBS-tween

NaOH

Folin's reagent

# Document 10 : protocole Sigma® de dosage de l'activité du lysozyme

## Enzymatic Assay of Lysozyme (EC 3.2.1.17)

### Description

This procedure may be used for the enzymatic assay of Lysozyme products. The spectrophotometric rate determination ( $A_{450}$ , Light path = 1 cm) is based on the following reaction:

Lysozyme

*Micrococcus lysodeikticus* Cells (Intact)  $\longrightarrow$  *Micrococcus lysodeikticus* Cells (Lysed)

Unit Definition – One unit of Lysozyme will produce a  $\Delta A_{450}$  of 0.001 per minute at pH 6.24 at 25 °C using a suspension of *Micrococcus lysodeikticus* as substrate in a 2.6 ml reaction mixture.

### Reagents and Equipment Required

**1.0 M Potassium phosphate monobasic solution** (Catalog Number **P8709**)

**1.0 M Potassium phosphate dibasic solution** (Catalog Number **P8584**)

1 M Potassium hydroxide (KOH) solution

1 M HCl solution

*Micrococcus lysodeikticus*, ATCC No. 4698, lyophilized cells (Catalog Number **M3770**)

#### Precautions

Please consult the Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

### Preparation Instructions

Use ultrapure water ( $\geq 18$  M $\Omega$ cm resistivity at 25 °C) for the preparation of reagents.

Buffer (50 mM Potassium Phosphate Buffer, pH 6.24, at 25 °C) – To prepared 550 ml:

- Add 20.125 ml of **1.0 M Potassium phosphate monobasic solution** (Catalog Number **P8709**).
- Add 7.375 ml of **1.0 M Potassium phosphate dibasic solution** (Catalog Number **P8584**).
- Add ultrapure water to make up the final volume to 550 ml.
- Adjust the pH to 6.24 at 25 °C using 1 M KOH or 1 M HCl.

Substrate Suspension (0.015% [w/v] *Micrococcus lysodeikticus* Cell Suspension) – Prepare a 0.15 mg/ml suspension in Buffer using *Micrococcus lysodeikticus*, ATCC No. 4698, lyophilized cells (Catalog Number **M3770**).

**Substrate Suitability:** The  $A_{450}$  of this suspension must be between 0.6–0.7 versus a Buffer blank. If necessary, adjust the absorbance using appropriate amount of Buffer or *Micrococcus lysodeikticus* cells.

Enzyme Solution (Lysozyme) – Immediately before use, prepare a solution containing 200-400 units/ml of Lysozyme in cold (2–8 °C) Buffer.

### Procedure

1. Pipette the following reagent into suitable cuvettes and equilibrate to 25 °C using a suitably thermostatted spectrophotometer:

Reagent	Blank (ml)	Test 1 (ml)	Test 2 (ml)	Test 3 (ml)
Substrate Suspension	2.50	2.50	2.50	2.50

2. Then add:

Reagent	Blank (ml)	Test 1 (ml)	Test 2 (ml)	Test 3 (ml)
Buffer	0.10	–	–	–
Enzyme Solution	–	0.10	0.10	0.10

3. Immediately mix by inversion and record the decrease in  $A_{450}$  for 5 minutes. Obtain the maximum linear rate ( $\Delta A_{450}$ /minute) for all the Tests and the Blank using at least a one minute interval and a minimum of 4 data points.

### Results

#### Calculation

1.

$$\text{Units/ml enzyme} = \frac{(\Delta A_{450}/\text{min Test} - \Delta A_{450}/\text{min Blank}) (df)}{(0.001) (0.1)}$$

where:

df = dilution factor

0.001 = Change in absorbance ( $\Delta A_{450}$ ) as per the Unit Definition

0.1 = Volume (in milliliters) of Enzyme Solution

## Document 11 : adaptation du coffret lysozyme pour la mesure de l'activité cathélicidine

### Fiche protocole

#### Matériel et réactifs

Tube de 10 mL de suspension test de *Micrococcus lysodeikticus* (MC) à  $0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  en tampon phosphate  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  à pH 6,2 présentant une  $\text{DO}_{450\text{nm}}$  de  $0,7 \pm 20 \%$

Tube de 200  $\mu\text{L}$  de solution de **cathélicidine à  $200 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$**

Tubes de 200  $\mu\text{L}$  de surnageants **partie 3 SN1, partie 3 SN2 et partie 3 SN3**

Flacon de 40 mL de **tampon phosphate pH 6,2** à  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

Semi-microcuvettes

#### Modifications du protocole du document 10

1. Volume de suspension : 1 mL
2. Volume de solution à tester : 50  $\mu\text{L}$
3. Cinétique d'une durée de 1 minute.

## Document 12 : fiches ATCC® des souches testées

***Micrococcus luteus* (Schroeter) Cohn (ATCC® 4698™)**

Strain Designations: [ATCC 15307, CCM 169, CIP A-270, IAM 1056, IFO 3333, NCIB 9278, NCTC 2665, NRRL B-287] / Type Strain: **yes** / Biosafety Level: **1**

SHARE | EMAIL | PRINT

GENERAL INFORMATION	CHARACTERISTICS	CULTURE METHOD	HISTORY	DOCUMENTATION
<b>Deposited As</b>	<i>Micrococcus lysodeikticus</i> Fleming			
<b>Strain Designations</b>	[ATCC 15307, CCM 169, CIP A-270, IAM 1056, IFO 3333, NCIB 9278, NCTC 2665, NRRL B-287]			
<b>Application</b>	Detection of aerosols Produces 6-aminopenicillanic acid Produces L-aspartyl-L-phenylalanine esters Quality control strain Sensitive to lysozyme Quality control strain for BBL products			
<b>Biosafety Level</b>	1  <i>Biosafety classification is based on U.S. Public Health Service Guidelines, it is the responsibility of the customer to ensure that their facilities comply with biosafety regulations for their own country.</i>			
<b>Product Format</b>	freeze-dried			
<b>Storage Conditions</b>	<b>Frozen:</b> -80°C or colder <b>Freeze-Dried:</b> 2°C to 8°C <b>Live Culture:</b> See Propagation Section			

***Micrococcus luteus* (Schroeter) Cohn ATCC® 4698™**

freeze-dried €102.00

Qty:

[Add to Cart](#)

**CUSTOMER SERVICE**

Don't see what you are looking for? Our Technical Support team may be able to help.

[Learn More](#)

M3770 Sigma-Aldrich

### ***Micrococcus lysodeikticus* ATCC No. 4698**

suitable for substrate for the assay of lysozyme, lyophilized cells

Synonym: *Micrococcus luteus*



[FDS](#) [Specification Sheet \(PDF\)](#)

Conditionnement - SKU	Disponibilité	Prix (EUR)	Quantité
M3770-5G	✓ Seulement 3 en stock (d'autres en cours d'arrivage) - A PARTIR DE	112.00	0 <a href="#">★</a> <a href="#">i</a>
M3770-25G	✓ Seulement 3 en stock (d'autres en cours d'arrivage) - A PARTIR DE	442.00	0 <a href="#">★</a> <a href="#">i</a>
M3770-100G	✓ Seulement 1 en stock (d'autres en cours d'arrivage) - A PARTIR DE	1,390.00	0 <a href="#">★</a> <a href="#">i</a>

[Bulk orders?](#)

[AJOUTER AU PANIER](#)

[Purchase](#) | [Safety & Documentation](#) | [Protocols & Articles](#) 2 | [Peer-Reviewed Papers](#) 18

#### Properties

form	lyophilized cells
suitability	suitable for substrate for the assay of lysozyme
storage temp.	-20°C

#### Description

<b>Packaging</b>	5, 25, 100 g in poly bottle
<b>Quality</b>	Contains polynucleotide phosphorylase.

## Document 13 : éléments de recherche en bio-informatique

**Aide à l'utilisation du site du NCBI : l'interface de recherche**

**Barre de recherche**

**Accès aux différentes bases de données interrogeables grâce au moteur de recherche**

### Quelques astuces :

☞ **Opérateur « AND »** : permet de relier deux requêtes. Par exemple : séquence recherchée + espèce

☞ **Quelques noms d'espèces :**

<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bos taurus</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rattus norvegicus</i>
<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Danio rerio</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Dictyostelium discoideum</i>	<i>Mus musculus</i>	<i>Xenopus laevis</i>

☞ **Convention d'écriture des séquences de référence** : exemple de la thioredoxine 3 chez *A. thaliana*

NC_003076.8	Séquence génomique
NM_123664.4	Séquence de l'ARNm
NP_199112.1	Séquence de la protéine

☞ **Aperçu de l'interface d'une page d'un gène** : exemple de la thioredoxine 3 chez *A. thaliana*

**TRX3 thioredoxin 3 [ *Arabidopsis thaliana* (thale cress) ]**  
Gene ID: 834313, updated on 22-Feb-2019

**Summary**

Gene symbol: TRX3  
Gene description: thioredoxin 3  
Primary source: [Araport\\_AT5G42980](#)  
Locus tag: AT5G42980  
Gene type: protein coding  
RNA name: thioredoxin 3  
RefSeq status: REVIEWED  
Organism: [Arabidopsis thaliana \(ecotype: Columbia\)](#)  
Lineage: Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetales; rosids; malvids; Brassicales; Brassicaceae; Camellineae; Arabidopsis

**Also known as**  
Summary: ATH3; ATTRX3; ATTRXH3; MBD2.18; MBD2\_18; THIOREDOXIN; thioredoxin 3; thioredoxin H-type 3; THIOREDOXIN H3; TRXH3 encodes a cytosolic thioredoxin that reduces disulfide bridges of target proteins by the reversible formation of a disulfide bridge between two neighboring Cys residues present in the active site. Thioredoxins have been found to regulate a variety of biological reactions in prokaryotic and eukaryotic cells.

**Table of contents**  
Summary  
Genomic context  
Genomic regions, transcripts, and products  
Bibliography  
Variation  
Interactions  
General gene information  
Homology, Gene Ontology  
General protein information  
NCBI Reference Sequences (RefSeq)  
Related sequences  
Additional links

**Informations diverses**

**Table des matières**

### How to: Find published information on a gene or sequence

Starting with...

#### A GENE NAME, GENE PRODUCT NAME, GENE SYMBOL, OR NCBI SEQUENCE ACCESSION NUMBER

1. Search the [PubMed](#) database of biomedical literature with the gene name, symbol or sequence accession number. Often more relevant result may be found by searching the Gene database as described below.
2. Search the [Gene](#) database with the gene name, symbol or sequence accession number. If you know the gene symbol and species, enter them as follows: tpo[sym] AND human[orgn]
3. Click on the desired gene.
4. Follow the link to PubMed from the Gene record links menu.
5. If there is no Gene record for this gene and organism, perform an [All databases](#) search with the gene name, product name, symbol, or accession number. For names, include the organism in the search to find the most relevant results, for example: Cytochrome c AND bullfrog[orgn] AND mrna[filter].
6. Click on the result for the relevant database (Nucleotide, EST, GSS, Protein).
7. Follow the link to PubMed from the within the displayed sequence record in the REFERENCES or the PubMed link from the Links menu.

### How to: Find a curated version of a sequence record (NCBI Reference Sequence)

Starting with ...

#### A GENE NAME, PRODUCT NAME, OR SYMBOL

1. Search the [Gene](#) database with the gene name, product name, or symbol. If you know the gene symbol and species, enter them as follows: tpo[sym] AND human[orgn]
2. Click on the desired gene.
3. Click on "Reference Sequences" in the Table of Contents at the upper right of the gene record.
4. The NCBI Reference Sequences section of the record has links to NCBI curated records for the genomic region, transcripts, and proteins for the gene of interest for eukaryotic organisms. Transcript sequences are not produced for prokaryotes.

#### A SEQUENCE ACCESSION NUMBER (e.g. U00001, AAA60471)

1. Perform an [All databases](#) search with the accession number.
2. Click on the result for the relevant database (Nucleotide, EST, GSS, Protein).
3. Look for the "Reference sequence information" section on the right-hand-side of the sequence record and follow the link(s) to the corresponding reference sequences.
4. The "More about the ... gene" section, when present, leads to the corresponding gene record. The gene record may provide access to additional reference sequences.

### How to: Find transcript sequences for a gene

Starting with ...

#### A GENE NAME, PRODUCT NAME, OR SYMBOL

1. Search the [Gene](#) database with the gene name, symbol. If you know the gene symbol and species, enter them as follows: tpo[sym] AND human[orgn]
2. Click on the desired gene.
3. Click on Reference Sequences in the Table of Contents at the upper right of the gene record.
4. The NCBI Reference Sequences section of the record has links to NCBI curated records for transcripts (NM and XM prefix reference sequences) for the gene of interest for eukaryotic organisms. Transcript sequences are not produced for prokaryotes.
5. If there is no gene record for the organism and gene of interest, perform a search in the [UniGene](#) database with the gene name, product name, or symbol.
6. Click on the UniGene cluster of interest.
7. The UniGene cluster has links to transcript sequences for the gene from the Nucleotide and EST databases
8. If there is no UniGene cluster for this gene and organism, perform a search in the [Nucleotide](#) database with the gene name, product name, or symbol. Include the organism in the search to find the most relevant results and filter for transcript sequences, for example: Cytochrome c AND bullfrog[orgn] AND mrna[filter].

## Rapport du jury

### Résultats de l'épreuve

22 candidats relevant de l'agrégation ont composé :

- 2 candidats ont obtenu une note supérieure à 14,
- 3 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14
- 2 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12
- 6 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 08 et strictement inférieure à 10,
- 4 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 06 et strictement inférieure à 08,
- 5 candidats ont obtenu une note inférieure à 06.

La moyenne générale de l'épreuve est de 08,88/20.

La moyenne des candidats admis est de 10,75/20.

La meilleure note est de 15,99/ 20.

### Observations générales

Le jury tient à féliciter l'ensemble des candidats pour leur calme, leur courage et l'endurance dont ils ont témoigné tout au long de cette épreuve longue et ardue. Les candidats ayant réussi l'épreuve ont fait preuve de rigueur professionnelle, d'esprit critique, de technicité et ont su correctement s'organiser dans le temps.

Le sujet comportait plusieurs manipulations indépendantes mobilisant différentes activités technologiques au programme des enseignements de biotechnologie. Ces manipulations nécessitaient de la rigueur, tant au niveau de leur préparation que dans leur mise en œuvre et l'exploitation des résultats obtenus. Néanmoins, les manipulations demandées entraient dans le cadre des programmes de BTS et de pré-bac et ne faisaient donc pas appel à une technicité hors d'atteinte par les candidats.

Une lecture rapide du sujet permettait aux candidats d'organiser dans le temps l'ensemble des manipulations à effectuer et d'exploiter au maximum les temps d'attente afin de pouvoir traiter le sujet dans son intégralité. Cette lecture permettait de se rendre compte que le sujet était composé de parties indépendantes qui pouvaient donc être réalisées dans l'ordre souhaité. Ce travail d'anticipation et d'organisation est tout particulièrement déterminant dans l'approche de l'épreuve et son absence pénalise souvent la bonne réussite des manipulations. Néanmoins, ce temps de préparation et de réflexion ne doit pas non plus être exagérément long ce qui aurait pour conséquence évidente l'impossibilité temporelle de réaliser l'ensemble des manipulations demandées et la rédaction d'un compte-rendu de qualité. Il est important de souligner que la partie purement expérimentale et celle de rédaction du compte-rendu tiennent une part relativement équivalente. En ce sens, un équilibre doit être trouvé par le candidat entre la rédaction du compte-rendu et la réalisation des manipulations. L'un ne pouvant et ne devant pas être sacrifié, si ce n'est au détriment de l'autre. A ce titre, le jury regrette que peu de candidats aient pu terminer l'épreuve notamment en raison d'une perte de temps lors de la rédaction de leur compte-rendu ou à cause d'hésitations qui les empêchent d'aller au bout de leurs manipulations. Le jury regrette un certain manque de technicité et de sens pratique pour certains candidats, générant des pertes de temps ainsi que des résultats expérimentaux aberrants. A ce titre, une préparation en amont rigoureuse et approfondie aux gestes de manipulation est très fortement conseillée aux candidats qui ne seraient pas, ou plus trop, familiers avec ceux-ci.

Cette année encore, le jury a intégré une heure de pause qui s'ajoute aux huit heures d'épreuves. Les candidats disposent à leur gré de cette heure qu'ils peuvent prendre en une ou plusieurs fois. A ce propos, le jury indique que fractionner ce temps de pause de façon trop importante ne remplit pas l'objectif fixé de repos en cours d'épreuve et ne permet pas aux candidats de se ressourcer correctement. Ainsi, le jury invite tout futur candidat admissible à organiser finement son temps de travail en incluant, obligatoirement, une ou deux périodes de pause réparatrices afin de pouvoir rester concentré sur toute la durée de l'épreuve.

## **Partie 1**

### **A. Mini-préparation par deux méthodes**

#### **Partie « Mise en œuvre »**

Les candidats devaient réaliser, selon deux modes opératoires proposés, des extractions d'ADN plasmidique à partir de trois cultures bactériennes. Ils devaient ensuite contrôler la qualité des ADN purifiés à l'aide d'un spectrophotomètre microvolume Nanodrop™. Cette partie permettait la mise en œuvre de deux protocoles classiques d'extraction d'ADN plasmidique. Elle permettait notamment d'évaluer la rigueur de la gestuelle de manipulation et nécessitait une certaine organisation temporelle afin de gérer au mieux les « temps morts ».

La plupart des candidats ont correctement réalisé les purifications d'ADN selon les deux modes opératoires. En revanche, les analyses spectrophotométriques furent une source de perte de temps importante pour certains candidats qui ont privilégié des mesures ponctuelles d'absorbance plutôt que la réalisation de spectres d'absorption.

#### **Partie « Questions d'exploitation »**

Question 1.3 : cette question demandait d'explicitier le rôle des différents éléments de la construction génique présentée dans le document 4. Le jury a regretté que certains candidats n'aient pas su faire la différence entre la construction génique et le vecteur alors que la question posée ne pouvait générer aucune ambiguïté.

Questions 1.4 et 1.5 : ces questions permettaient de faire une analyse comparative des deux approches expérimentales mises en œuvre. Elles ont mis en évidence un certain manque de recul de certains candidats par rapport aux résultats obtenus avec le Nanodrop™ concernant la méthode d'extraction « manuelle ». En effet, les rapports A260/A280 et A260/A230 devaient être utilisés afin d'analyser la pureté des échantillons préparés. Les quelques candidats les ayant utilisés ont très bien interprété leurs résultats mais le jury regrette qu'ils aient été peu nombreux à le faire.

### **B. Analyse de l'ADN plasmidique purifié par digestion enzymatique suivie d'une électrophorèse**

#### **Partie « Mise en œuvre »**

Cette partie a globalement été bien réalisée : 16 candidats sur 22 ont réalisé l'électrophorèse qui a donné en général des résultats interprétables.

#### **Partie « questions d'exploitation »**

L'estimation de la taille de l'insert nécessitait la réalisation d'une étape de bio-informatique. Cette partie ne présentait pas de difficultés particulières si ce n'est la réalisation d'une recherche en anglais et sans fautes d'orthographe.

Lorsque les résultats étaient interprétables, l'analyse des profils de restriction fût globalement bien menée par les candidats. Le jury a toutefois pu noter des erreurs d'interprétation lorsque la quantité d'ADN digérée était trop importante engendrant la présence de bandes surnuméraires correspondant à la construction linéarisée en plus de celles correspondant au vecteur et à l'insert.

## **Partie 2**

La partie 2 consistait à rechercher la présence d'un peptide dans le surnageant de cultures bactériennes. Elle permettait d'évaluer la capacité des candidats à concevoir un protocole simple à partir de données brutes fournies dans l'énoncé. Une certaine liberté d'exécution et de réalisation était donc permise du moment où elle permettait de répondre à l'objectif fixé. Le jury a favorablement constaté que tous les candidats ont réalisé cette partie.

Concernant la conception de la gamme, il était nécessaire de prévoir un nombre suffisant de points judicieusement répartis et de réalisation technique simple.

Si les candidats ont pensé à tester les surnageants dilués, il ne fallait pas oublier de tester aussi les surnageants non dilués car certains échantillons pouvaient ne pas contenir de cathélicidine.

Le jury regrette que beaucoup de candidats ne maîtrisaient pas la technique d'ELISA compétitif et l'ont trop souvent confondue avec l'ELISA sandwich.

De plus, cette partie permettait d'évaluer les capacités des candidats à transposer et adapter un protocole expérimental coûteux dans le contexte d'un établissement scolaire. Le jury regrette que ce travail de transposition, quotidien du travail d'un enseignant de nombreuses de nos formations pré- et post-baccalauréat, n'ait pratiquement jamais été réalisé.

### **Partie 3**

La partie 3 comprenait principalement des mesures cinétiques de la lyse de *Micrococcus lysodeikticus*. Dans la sous-partie A, il s'agissait de rédiger le mode opératoire du dosage de l'activité lytique d'un surnageant en tenant compte des informations fournies dans l'énoncé. Au vu des données fournies, la conception de ce protocole ne présentait pas de difficultés majeures et l'acquisition des résultats était alors très simple et rapide. Le jury a profondément regretté que moins de la moitié des candidats ait réalisé cette sous-partie dans la mesure où aucune difficulté particulière ne devait, a priori, freiner la conception et la réalisation de ces manipulations par les candidats. Le jury a constaté que certains candidats ne connaissent pas l'utilisation du spectrophotomètre en mode cinétique et, malgré le fait que la fiche technique était fournie à côté des appareils, n'ont pas utilisé cette fonction des spectrophotomètres. Ils ont alors perdu énormément de temps en relevant les absorbances puis en traçant des droites d'inactivation afin de calculer des pentes.

La sous-partie B abordait la mesure de l'activité lysozyme dans un contexte pédagogique en effectuant une étude de faisabilité et de coût. Le jury a été surpris de constater que certains candidats se sont découragés pour réaliser les colorations de Gram demandées alors qu'il s'agit d'une technique de microbiologie de base. D'autre part, il a été regretté que les quelques candidats qui ont effectué les tests d'orientation n'aient pas compris la finalité de cette partie. En effet, les candidats devaient établir que les souches MS et MA n'avaient pas la même sensibilité au lysozyme malgré l'absence de différences observables sur le plan microscopique (il s'agit d'ailleurs de la même espèce). En revanche, ces deux souches avaient des caractères macroscopiques bien différents, qui auraient pu être décelés lors de la préparation des suspensions, susceptibles d'expliquer leur sensibilité différente au lysozyme.

### **QUESTIONS DE SYNTHESE**

Le jury regrette que la grande majorité des candidats n'ait pas abordé ces questions de synthèse qui permettaient de faire du lien entre les trois parties de l'épreuve et de mettre en relation les résultats expérimentaux obtenus afin de se projeter, à l'aide d'un choix pertinent, dans un objectif de transposition industrielle.

# CONCLUSION GENERALE

Le jury félicite très chaleureusement les 10 candidats admis à la session 2019 de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique. Il a été impressionné par certaines prestations et par la persévérance de l'ensemble des candidats admissibles tout au long du concours.

Le jury encourage les candidats non admis à persévérer dans leur projet. Comme cela a été indiqué tout au long de ce rapport, il est nécessaire que les candidats se préparent aux épreuves dans l'objectif de témoigner des compétences attendues d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique.

**Le jury tient à vivement remercier Madame la Proviseure du lycée Pierre-Gilles de Gennes-ENCPB (Paris) ainsi que Monsieur le Proviseur du lycée Julien Wittmer (Charolles) et leurs équipes : proviseurs adjoints, enseignants, techniciens et personnels administratifs, pour l'accueil et l'aide efficace apportés tout au long de l'organisation et du déroulement de ce concours qui s'est effectué dans d'excellentes conditions.**