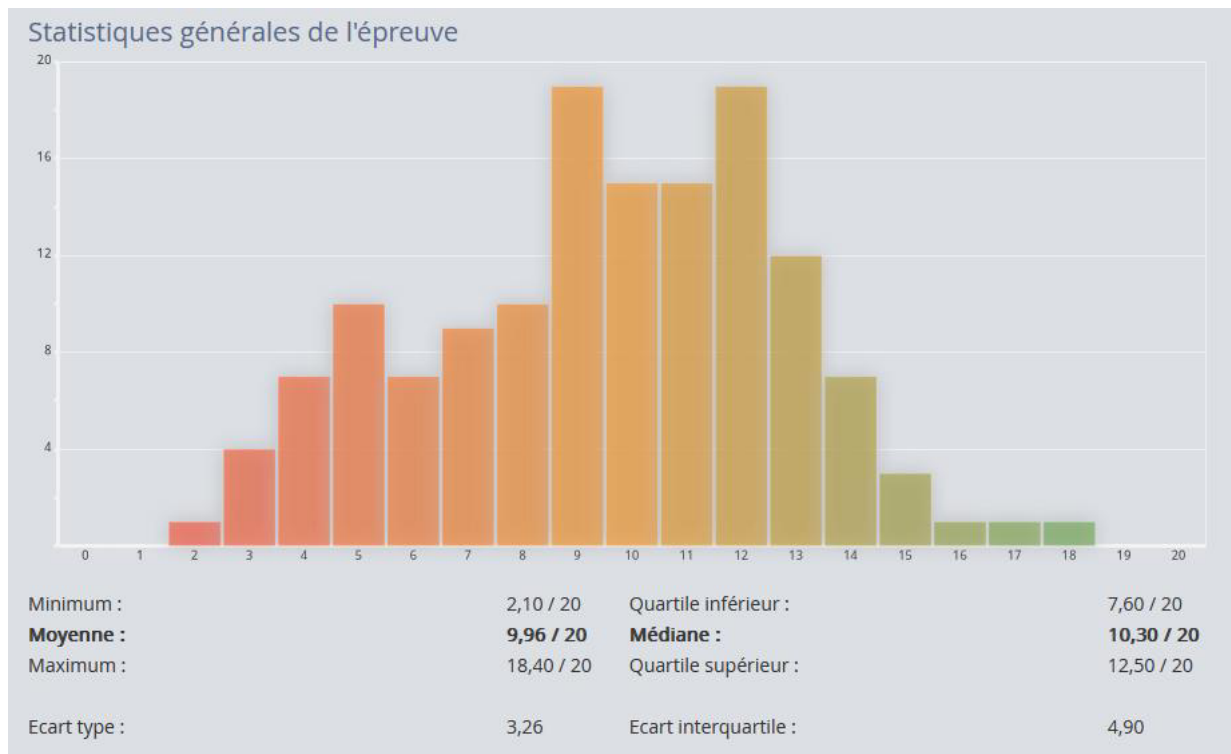




Rappel des conditions de l'épreuve

- **Le sujet :**

L'épreuve est organisée classiquement en 2 parties indépendantes avec une question rédactionnelle sur une thématique du programme. Le sujet proposait une étude de la production d'un candidat vaccin, la protéine Osp A, vaccin contre la maladie de Lyme.

La première partie abordait l'étude du groupe de bactéries impliquées dans la maladie de Lyme, des espèces du genre *Borrelia* :

- organisation structurale de la bactérie ;
- méthode d'étude et d'identification au laboratoire bactériologique ;

puis la production de souches génétiquement modifiées afin d'étudier l'implication de certaines protéines de surface dans les processus de colonisation de la tique *Ixodes ricinus*, vecteur de la bactérie pathogène.

PROGRAMME : parties 4 et 3 du programme (biologie moléculaire des acides nucléiques et génie génétique et microbiologie et génie microbiologique)

La seconde partie abordait une étude plus spécifique de la protéine OspA, identifiée comme pertinente pour la production d'un vaccin efficace. Les aspects structuraux étaient abordés au début du questionnement. Puis, les modifications ciblées de la structure pour faire apparaître des ponts disulfures étaient évaluées. Ensuite, les techniques utilisées pour mesurer l'impact des ponts disulfure la structure de la protéine OspA étaient discutées, et enfin le dosage des anticorps induits par la vaccination chez la souris était abordé.

PROGRAMME : parties 1 et 2 (biochimie des protéines et procédés de purification et enzymologie et génie enzymatique)

La question rédactionnelle abordait les méthodes de séquençage et évolutions récentes vers les NGS.

RAPPORT DE L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOTECHNOLOGIES

Le sujet ainsi construit a permis, cette année encore, de classer les candidats en vérifiant :

- la bonne maîtrise des connaissances scientifiques et technologiques ;
- la capacité d'analyse, de synthèse, de reformulation ;
- la capacité à structurer des connaissances et compétences scientifiques et technologiques autour d'une question rédactionnelle ;
- la capacité d'adaptation des connaissances dans le contexte proposé avec une argumentation construite.

L'adaptabilité et la construction d'une argumentation sont fondamentales pour le futur métier d'ingénieur.

Le jury souhaite rappeler que les deux parties du sujet sont indépendantes. Les conseils prodigués dans les rapports des précédentes années restent valables. La structure de l'épreuve est conservée :

- chaque partie est notée sur 10 points : on conseille de consacrer 90 minutes environ par partie ;
- la question rédactionnelle (**Q13**) incluse dans la **partie 1** nécessite d'y consacrer vraiment une trentaine de minutes.

L'ordre dans lequel les parties sont traitées est laissé à l'appréciation du candidat : seulement quelques copies ont commencé par la **partie 2** cette année.

Les meilleurs candidats ont su gérer le temps de composition afin d'aborder l'ensemble du sujet de façon très satisfaisante. Le jury tient à rappeler qu'il est nécessaire d'équilibrer le temps de travail pour chacune des questions et de ne pas trop perdre du temps par de trop longues phases de rédaction dès les premières questions.

Le jury félicite les candidats qui ont répondu à l'ensemble des questions (environ 20 %).

Rédaction :

Cette année, le jury a été satisfait de la qualité de la rédaction, de l'usage du français et de l'orthographe pour la grande majorité des copies. La présentation reste satisfaisante et soignée. Le jury rappelle que ces éléments font partie intégrante de l'évaluation.

Qualité des réponses :

Le jury constate, cette année, des copies un peu moins denses, par rapport aux précédentes sessions, avec une argumentation des réponses pas toujours très développée. Les analyses sont souvent superficielles faute de temps. Les candidats sont assez peu à proposer des hypothèses clairement étayées.

En revanche, les candidats prennent bien en compte le contexte proposé, lors de la mobilisation des connaissances nécessaires. Les illustrations sont généralement soignées pour la grande majorité des candidats avec un titre et une annotation précise.

Peu de candidats osent utiliser des « représentations-outils » afin de synthétiser les données ou les réponses, tout en conservant une précision nécessaire : tableau, schéma structuré et bien annoté et introduit...

Les documents (**documents 2, 3 et 7**) avec des éléments en langue anglais ont été très correctement abordés et mobilisés, illustrant le niveau de maîtrise des candidats et anglais.

L'évaluation des capacités calculatoires est présente dans les sujets depuis des années à travers une question que le jury considère fondamentale, bien que simple (**Q26**). Seuls 25 % des candidats ont montré une maîtrise de cette question (ici une dilution au demi), ce qui est jugé très faible par le jury.

Les concepts de base doivent être maîtrisés. Il est surprenant que des candidats fournissent de long développement pour montrer leur maîtrise de CRISPR alors que la structure des acides aminés (qui était donnée en document dans le sujet) est mal maîtrisée. D'autant plus que le jury n'attendait pas de développement de ce type (Q17).

Pour les autres points du programme, de nombreux candidats ont fait preuve d'une bonne maîtrise des contenus abordés dans le sujet.

Question rédactionnelle (Q13)

A globalement été satisfaisante. Très peu de candidats, cette année ne l'ont pas traitée. Les meilleurs candidats structurent leur réponse avec un plan clair (en s'appuyant sur le contexte proposé), une introduction argumentée, une conclusion avec une ou des ouvertures, une illustration précise et annotée et des phrases de transition bien adaptées. Beaucoup de candidats ont une bonne maîtrise de la méthode de Sanger (étapes de la procédure, structure d'un ddNTP, avantages / limites). L'utilisation historique du radio-marquage n'est que très peu signalée par contre. Les évolutions (marquage par un fluorochrome porté par les ddNTPs, un seul tube réactif et électrophorèse capillaire avec mesure de fluorescence) sont globalement bien présentées, mais pas toujours complètes néanmoins. La partie sur le NGS ne nécessitait pas d'en développer les principes. De nombreux candidats ont bien argumenté les avantages et même décrit certaines méthodes (Nanopore par ex,...) ou ont conçu des tableaux comparatifs des différentes méthodes par rapport à la méthode historique de Sanger.

La suite de ce rapport va se focaliser sur des points particuliers qui paraîtront parfois négatifs, mais visant à accompagner la préparation des futurs candidats.

Commentaires par question

La première partie abordait :

- des éléments de microbiologie classique : organisation structurale de *Boreliella* et méthode d'identification au laboratoire ;
- la construction et la préparation de différents mutants exprimant des protéines de surface en vue de caractériser leur efficacité pour la vexion par la principale tique vectrice.

Q1 À partir du **document 1** assez riche, il était demandé d'isoler les informations clefs afin de réaliser un schéma annoté de l'organisation structurale de la bactérie. Cette question n'a pas posé de problème : des schémas de qualité de forme spiralée ont été réalisés avec la représentation des matériels génétiques et l'organisation des enveloppes souvent bien détaillées.

Q2 On demandait aux candidats de prévoir les tests à réaliser pour mettre en évidence les caractères phénotypiques de la souche dans un contexte laboratoire : mobilité, coloration de Gram, type respiratoire, auxanogramme, zymogramme et température de croissance. La question a été bien comprise, les réponses n'ont pas toujours été bien argumentées ou complètes. Des réponses synthétiques ont été proposées sous forme de tableau avec : le caractère recherché, la méthode pour le mettre en œuvre avec quelques descriptions techniques et le résultat attendu. Certains candidats citent la galerie API pour le zymogramme et l'auxanogramme sans préciser le substrat utilisé, ni les modalités de la lecture.

Q3 La définition du GC % est maîtrisée. Par contre, peu de candidats présentent la méthode pour le déterminer au laboratoire. On attendait le traitement thermique de l'ADN et le suivi de l'Abs_{260 nm} avec l'observation d'un effet hyperchrome. Le séquençage répondait, mais souvent sans en préciser la méthode.

Q4 La définition et l'intérêt chez les procaryotes de l'opéron sont bien maîtrisés. Il n'était pas demandé de développer l'opéron lactose. Certains candidats l'ont fait, au détriment de la gestion du temps sur l'épreuve. Le jury rappelle de bien lire le cadre et les limites des questions afin d'optimiser le temps de composition.

Q5 Cette question n'a pas posé de problème. La description de la cassette « flgBp-aacC1 » avec ses deux composants et son intérêt pour sélectionner les souches génétiquement modifiées ont été bien argumentés. La finalité du codon « stop » n'a par contre pas toujours été bien comprise.

Q6 L'analyse du **document 3** a souvent été superficielle. Le témoin de la manipulation (souche S9) n'a pas été bien identifié. Les analyses des résultats obtenus pour les différentes constructions de souches ont été trop rapides, sans prendre en compte les données statistiques présentes (médiane, distribution, des points, *p value*,...).

Les meilleurs copies ont regroupé l'ensemble des données clefs dans un tableau synthétique alors très rapide à analyser. Les protéines OspA et Osp B pouvaient être sélectionnées pour le vaccin. Certains candidats ont bien mené l'analyse et cette réflexion.

Q7 Cette question a été correctement abordée, néanmoins quelques argumentations ne sont pas toujours présentes.

Q8 Cette question n'a pas été correctement traitée, ni sur une présentation simple du principe de la cytométrie, ni sur les attentes des analyses obtenues sur les souches bactériennes préparées : 80 % de la souche préparée devait exprimer OspA et présenter une forme viabilité (données fournies et déduites du **document 4**).

De bonnes copies présentent un principe de fonctionnement simple d'un cytomètre à l'appui d'un schéma annoté : marquage fluorescent de la suspension cellulaire à analyser, passage dans une veine liquide les cellules les unes à la suite des autres et analyse après passage devant un laser : taille, forme et présence / absence fluorescence afin de caractériser les cellules. Des confusions ont été notées : présentation du principe d'un Coulter, présentation du principe d'un test ELISA, ...

Q9 La présentation du protocole du **document 4** n'a pas posé de problème. La qualité et la précision du logigramme, le soin apporté à la représentation choisie ont permis de distinguer les candidats. Les très bonnes copies ont identifié les grandes étapes et leur rôle dans un logigramme détaillé et rigoureux.

Q10 L'analyse de l'extrait de la fiche produit du **document 5** a souvent été superficielle. Peu de candidats ont conclu que le LDS 751 permettait d'identifier les cellules vivantes par une forte augmentation de la fluorescence émise en se liant à de l'ADN db non dégradé. Cette information relevée et bien signalée permettait d'aborder sereinement les deux dernières questions.

Q11 Peu de candidats ont répondu correctement à cette question. On attendait un histogramme comme celui présenté dans le **document 5** avec un petit pic aux faibles intensités de fluorescence (cellules mortes - ADN dégradé - LDS 751 peu lié) et un grand pic aux fortes fluorescences (cellules vivantes - ADN natif - LDS 751 fortement lié) puisque les futurs tests d'infection nécessitent des bactéries vivantes. Certaines bonnes réponses corrôlaient parfaitement le pic majeur avec chacune des deux bactéries.

Q12 Seule une dizaine de candidats ont répondu correctement à cette question. Les réponses présentaient un schéma sous forme d'un scattergramme avec 4 secteurs parfaitement identifiés, aux axes correctement annotés. Les populations bactériennes d'intérêt devaient répondre à deux caractéristiques : être vivantes (forte intensité de fluorescence du marquage LDS 751) et expression de la protéine Osp A (fort marquage par les Ac -PE).

RAPPORT DE L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOTECHNOLOGIES

Ces mêmes candidats ont pris le temps d'argumenter le positionnement du nuage de points représentant la population bactérienne attendue.

Cette question finissait cette partie, ce qui explique la nécessité d'un peu plus de réflexion et de prise de recul sur le point abordé.

La seconde partie abordait la protéine OspA choisie pour la production du vaccin. Les aspects structuraux étaient abordés au début du questionnement. Puis, les modifications ciblées de la structure pour faire apparaître des ponts disulfures sont évaluées. Ensuite ont été discutées les techniques utilisées pour mesurer l'impact des ponts disulfure sur la structure de la protéine et enfin le dosage des anticorps induits par cette vaccination chez la souris.

Le temps a visiblement été assez mal géré avec des candidats rédigeant de très longues réponses, particulièrement en début de partie (**Q14** et **Q15**) ou des schémas inutiles (voir **Q27**) mais ne traitent pas des questions plus simples et moins longues.

Cette partie du sujet a été comprise par une majorité de candidats. Les candidats les plus en difficulté ne maîtrisaient pas la structure des acides aminés et notamment ceux impliqués dans la formation des ponts disulfures.

Q14 Les candidats se sont souvent contentés de décrire les modifications sans parler des conséquences. Il fallait expliquer pourquoi la protéine est/devient membranaire. Parler des éléments qui expliquent le caractère membranaire de OSPA. Les termes hydrophobe, amphiphile avaient toute leur place dans cette explication.

Q15 Les candidats pouvaient discuter l'aspect de la purification de la protéine pour produire le vaccin et de l'intérêt de l'avoir sous forme hydrophile plutôt qu'amphiphile au moment de son utilisation vaccinale.

Q16 La lipase était la réponse la plus évidente mais d'autres ont été acceptées. Le terme hydrolase ne permettait pas d'obtenir l'ensemble des points.

Q17 La réponse la plus simple était la modification de la cystéine impliquée dans la liaison. Les (très) longues explications techniques ou la description de CRISPR n'étaient pas attendues. Beaucoup de candidats montrent un schéma passe-partout de génie génétique (clonage, plasmide, sélection, etc.) mais il est évident qu'ils ne maîtrisent pas les objectifs de ces techniques, précisément dans le cadre de la question posée.

Q18 Les candidats devaient mettre en avant les cystéines. Les schémas avec les formules complètes ont été valorisés. Beaucoup trop de candidats citent des acides aminés au hasard.

Q19 Les candidats devaient discuter de la position des acides aminés, de leurs caractéristiques physico-chimiques, dans le but de montrer que cela impacte la température de fusion.

Q20 Il était attendu un schéma montrant la dénaturation d'une protéine à partir de sa structure III (ou IV) vers sa structure primaire, les ponts disulfures devaient être visibles après dénaturation par la chaleur si le candidat choisissait d'en inclure. Les réponses ont trop souvent été d'un niveau très faible alors qu'il n'y avait pas de difficultés apparentes.

Q21 Les candidats devaient mettre en évidence l'impact des conditions réductrices ou non sur les ponts disulfures. Cette question a été correctement traitée dans l'ensemble.

Q22 Cette question intervenait après un travail précédent sur les ponts disulfures. Le candidat devait remarquer la différence non significative de T_m pour expliquer l'absence de pont disulfure (certains ont parlé de 1 pont, ce qui était cohérent avec leur explication). Beaucoup n'ont pas compris qu'il s'agissait d'une protéine sans modification expérimentale.

Q23 La réponse attendue était M2B. Les candidats devaient s'appuyer sur les valeurs chiffrées pour justifier leurs réponses et prouver que cela n'était pas du hasard.

RAPPORT DE L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOTECHNOLOGIES

Q24 L'explication du mode d'action du SDS est plutôt bien maîtrisée. Le schéma était attendu pour montrer son action (ce que les candidats ont fait quasi systématiquement).

Q25 Le rôle de SDS était d'arrêter la réaction en dénaturant l'enzyme utilisée pour la révélation.

Q26 Seulement 20 % des candidats ont réussi cette question, qui consistait à calculer une dilution au demi. Certains candidats ont obtenu les points sans faire le moindre calcul car ils ont montré la trivialité de la question en répondant directement. Ce type de question calculatoire simple pose de plus en plus de problème au fil des années.

Q27 La question demandait la structure après ajout du SDS. Toutes les protéines étaient alors potentiellement dénaturées. Devant le faible nombre de candidats qui ont pris la question à ce niveau, le jury a accepté l'édifice avant ajout de SDS. Le schéma d'un seul édifice était nécessaire, le reproduire plusieurs fois n'était absolument pas utile. Une légende était cependant indispensable.

Q28 Très peu de candidats a réussi la question, notamment au regard des besoins en réactif qui était de 200 μL puisque les essais étaient réalisés en double.

Q29 Les candidats devaient expliquer le changement d'Ac secondaire pour un Ac spécifique des IgM et non plus des IgG.