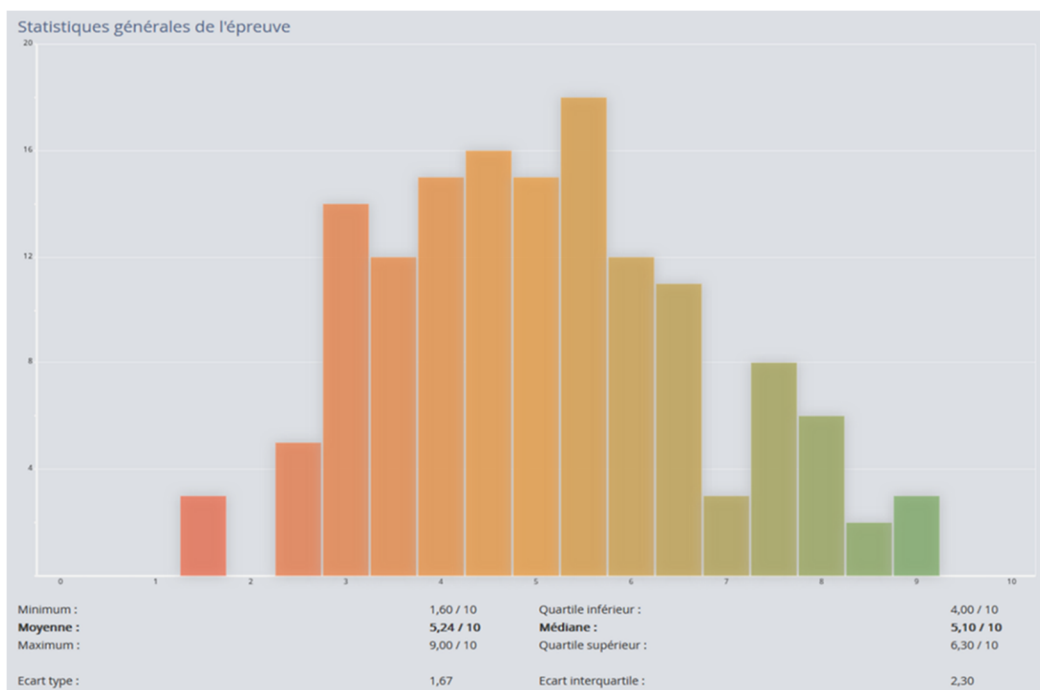


RAPPORT DE L'ÉPREUVE ÉCRITE DE BIOTECHNOLOGIES



Le sujet est classiquement organisé en 2 parties indépendantes, abordant cette année un système antiviral bactérien, le système CBASS. Une question rédactionnelle est proposée dans la première partie du sujet.

Partie 1 : Mise en place d'outils biotechnologiques nécessaires à l'étude du système immunitaire via le système CBASS.

Cette première partie propose la discussion qui s'articule autour de 3 éléments :

- le bactériophage $\Phi 80\alpha$, dont il s'agit d'analyser l'organisation génomique pour en dégager les caractéristiques structurales et le mode de multiplication, puis de maîtriser la production et la titration (technique des spots, calculs de dilution) ;
- le phage recombinant $\Phi 80\alpha$ -virGFP, exclusivement lytique et exprimant la protéine GFP, obtenu par recombinaison homologue via un plasmide (pDVB434) et sélection par CRISPR-Cas9 (pDVB435) pour éliminer les phages non recombinants ;
- la bactérie *Staphylococcus aureus* RN4220 et ses souches dérivées (Ssc-CdnE03 et Ssc-CBASS). Il est analysé la composition du milieu BHI, les courbes de croissance bactérienne en présence ou non des phages, l'intérêt de l'intégration chromosomique par rapport à l'utilisation de plasmides.

Partie 2 : Étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent la défense immunitaire bactérienne CBASS

La deuxième partie s'articule sur 3 phases d'analyse :

- l'étude structurale et fonctionnelle de la cyclase Ssc-CdnE03. La biochimie structurale est mise en avant par l'analyse des acides aminés impliqués dans la liaison à l'ARN, en lien avec les propriétés ioniques des acides nucléiques. Le principe de la chromatographie d'affinité utilisée est présenté pour identifier les ARN partenaires de la cyclase et une analyse d'un gel d'électrophorèse permet de conclure ;

- l'étude de la protéine GFP (structures secondaires, nature du chromophore, modifications post-traductionnelles, spectres d'absorption/émission) et de l'iodure de propidium comme marqueur d'intégrité membranaire ;
- Finalement, les mécanismes moléculaires sont étudiés par les résultats de microscopie à épifluorescence sur les 2 souches (Ssc-CBASS et Ssc-CdnE03) en présence du phage $\Phi 80\alpha$ -virGFP. L'analyse permet de discuter la survie bactérienne, le rôle de l'effecteur CAP15 dans la perturbation de la membrane.

La question rédactionnelle (Q12) porte sur la diversité structurale des virus, les grandes étapes d'un cycle viral et les méthodes de mise en évidence et de quantification virale.

Dans l'ensemble, le sujet de cette session a permis d'évaluer dans les copies :

- la maîtrise des connaissances scientifiques et technologiques élémentaires comme avancées ;
- la capacité d'analyse, de synthèse, de reformulation de la problématique ;
- 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 ;
- la capacité à construire la trame d'un mécanisme physiologique au niveau moléculaire à l'aide d'un ensemble d'éléments analysés et déduits.

Le jury souhaite rappeler que les conseils prodigués dans les rapports des précédentes années restent valables, à savoir :

- chaque partie est notée sur 10 points : il est conseillé de consacrer 90 minutes par partie ;
- la question rédactionnelle (Q12) nécessite un engagement d'environ 30 minutes sur la partie 1, en apportant un soin particulier à la structuration du propos pour le rendre le plus cohérent possible.

L'ordre dans lequel les parties sont traitées est laissé à l'appréciation du candidat.

Une part importante des candidats a traité l'ensemble du sujet avec des réponses aux questions suffisamment argumentées. Les meilleurs candidats ont su gérer le temps de composition afin d'aborder l'ensemble du sujet de façon synthétique, précise et rigoureuse.

• Rédaction

La présentation des productions écrites reste globalement satisfaisante voire soignée. Des efforts dans la présentation des schémas ont été appréciés. Cette année, moins de copies présentent de nombreuses fautes de français (orthographe, grammaire).

Le jury rappelle que ces éléments font partie intégrante de l'évaluation des copies.

• Qualité des réponses

Le jury constate une amélioration de l'argumentation des réponses et de la prise en compte du contexte d'utilisation des connaissances mobilisées par le sujet proposé.

Les illustrations sont généralement soignées pour la majorité des candidats avec le ciblage des éléments importants des schémas et une annotation précise, permettant aux candidats de gagner du temps.

Peu de candidats osent utiliser différentes formes synthétiques de réponse (tableau, schéma structuré et bien annoté, par exemple) permettant d'alléger les réponses tout en conservant une précision nécessaire.

Les quelques éléments en anglais dans les documents n'ont pas posé de problèmes car les questions afférentes ont été très correctement abordées et analysées pour la grande majorité des candidats.

Les données expérimentales des parties 1 et 2 sont souvent bien décrites. L'analyse est majoritairement bien construite et la ou les conclusions sont bien argumentées. Cependant certaines réponses sont encore trop longues, mélangeant les points importants et les points annexes, ce qui peut faire perdre du temps aux candidats. Il est également à noter que certaines compétences fondamentales restent à renforcer (calculs simples de dilution ou de quantités).

Au global, de nombreux candidats ont fait preuve d'une bonne maîtrise des points du programme abordés dans le sujet.

La partie 1 du sujet a été globalement bien comprise. Les analyses de documents sont d'assez bon niveau, mais sont parfois trop longues, s'éloignant des objectifs premiers de la question. Les questions calculatoires (Q3 et Q4) n'ont été que très peu abordées. Les questions théoriques montrent parfois des lacunes, comme par exemple, sur la description du système CRISPR CAS9 ou l'analyse du milieu de culture utilisé (Q8), superficielle avec parfois des erreurs notables sur les rôles des composants.

Pour la question rédactionnelle sur les virus (Q12), les meilleures réponses présentent une introduction contextualisée avec une annonce du plan, un titre pour chacune des 3 parties, au sein desquelles les connaissances mobilisées sur l'organisation structurale (capside, génome, enveloppe, base de la classification), les cycles de multiplication (lytique, lysogène) et la mise en évidence et quantification des virus (Elisa, qPCR, dénombrement sur gélose avec plages de lyse, sonde moléculaire, microscopie...) sont développés, explicités et illustrés. La conclusion reprend les éléments clefs développés et propose une ouverture.

La gestion du temps pour cette question rédactionnelle est généralement le problème majeur : ainsi, 6 candidats ne l'ont pas traitée et souvent, la qualité, la structuration et les illustrations ne sont pas toujours abouties.

La partie 2 du sujet a été globalement bien traitée. Peu de candidats n'ont pas fini la partie 2 même s'il peut se voir parfois un manque de temps dans la rédaction des dernières questions. Les questions les plus théoriques montrent des lacunes importantes, comme par exemple, le concept d'anode et de cathode ainsi que leur charge non maîtrisé par 30 % des candidats.

Les analyses de documents correctes, mais parfois très longues doivent être résumées, permettant une analyse simple et directe recentrée sur le sujet et les questions suivantes.

Les conseils des années précédentes restent valables et semblent pris en compte par les candidats.

La suite du rapport propose quelques conseils et éléments de réponses dans l'ordre des questions.

Q1. La lecture attentive de l'organisation du génome viral permet de repérer les éléments clefs pour la réponse : nature de la nucléocapside et organisation, mode de multiplication par cycle lytique et lysogénique. Les meilleures copies se focalisent sur ces éléments clefs sans se perdre sur les autres boîtes fonctionnelles et prennent le temps de décrire, illustrer et expliciter les données.

Q2. Cette question a été bien traitée avec parfois des schémas efficaces et de bonnes explications quant aux principes physiques mis en œuvre. La description des étapes du protocole de production des phages n'était pas demandée.

Q3. Cette question calculatoire a été entièrement traitée par 6 candidats qui ont déterminé les dilutions de la suspension phagique, en posant correctement le contexte et les calculs.

Q4. Cette question pouvait être traitée indépendamment de la précédente : présentation des étapes d'un dénombrement d'une suspension de phages. De nombreuses copies ne l'ont pas traitée. De bonnes copies se sont appuyées sur des schémas annotés et explicités permettant d'y répondre très correctement.

Q5. Les réponses montrent que le principe de l'obtention des phages recombinés a été compris. Mais le mécanisme d'une recombinaison homologue n'est pas nommé. Les erreurs sont trouvées quant au rôle de la séquence RBS confondue avec la séquence codante de la protéine GFP.

Q6. La description du système CRISPRCas n'est globalement pas très bien maîtrisée par les candidats. Cependant, les meilleures copies contextualisent son principe en s'appuyant sur l'objectif d'éliminer des phages non recombinés, avec des schémas de qualité pour compléter l'argumentation.

Q7. La question aborde l'élimination des séquences codantes pour la lysogénie afin de générer des phages lytiques. De bons raisonnements ont été exposés pour y répondre : nécessité de supprimer les séquences lysogènes par exemple, par l'utilisation du système CRISPRCas ou d'enzymes de restriction....

Q8. Cette question classique n'a pas été bien traitée et a montré des confusions sur le rôle des éléments du milieu ou des réponses stéréotypées sans argumentation construite.

Q9. Cette question classique a été bien argumentée pour la grande majorité des candidats.

Q10. De bons éléments de réponses ont été produits par des candidats, avec des analyses fines afin de représenter les différentes courbes de croissance : souche sauvage du phage présentant des cycles lysogène et lytique, souche recombinée du phage uniquement lytique.

Cependant, les représentations graphiques ne sont pas toujours très correctes : axes non identifiés, absorbance comme grandeur en abscisse, pas de titres,...

Les candidats doivent systématiquement expliciter et argumenter les courbes présentées.

Q11. Des bons éléments de réponse ont été donnés.

Q13. La détermination des acides aminés et leur ionisation au pH physiologique a été correctement traitée par la quasi-totalité des candidats.

Q14. La connaissance de la structure des ARN était attendue, avec l'explicitation de l'origine des charges négatives portée par le groupement phosphate. Le type de liaison impliquée entre l'ARN et la cyclase était aussi attendu. Des confusions ont été fréquentes.

Q15. Le schéma adapté aux molécules étudiées dans le sujet et en présence de cyclase est attendu. Le principe général, avec des schémas trop petits a été insuffisant. Du fait du temps contraint, les schémas légendés, de bonne qualité graphique, résumés à une structure pertinente suivie sur l'ensemble des étapes nécessaires ont été acceptés.

Q16. Le positionnement et les charges respectives des cathode et anode ne sont pas maîtrisés par tous les candidats.

Q17. La notion de spécificité était attendue en complément de l'explicitation du résultat attendu.

Q18. Une conclusion sur la spécificité de la cyclase vis-à-vis des ARN, au regard des témoins de l'expérience était attendue. La description seule ne suffisait pas.

Q19. Dans cette question descriptive, le candidat devait donner les 3 structures et leur couleur dans la structure proposée sur le schéma.

Q20. Les candidats ont souvent bien cité les 3 acides aminés impliqués. Cependant, certains candidats ont plutôt choisi de compter les atomes présents dans la molécule sans nommer les acides aminés impliqués.

Q21. Les candidats devaient donner les réactions impliquées. Les détails moléculaires n'étaient pas attendus

Q22. Les 2 longueurs d'onde ont été choisies correctement par la grande majorité des candidats. Une courte justification de ces choix était nécessaire. Le lien entre les 2 longueurs, leur différence n'a été que très peu traité par les candidats.

Q23. Le candidat devait discuter à la fois le caractère perméant de l'iodure de propidium et sa fluorescence au contact de l'ADN. Le candidat devait alors montrer l'utilité de la molécule pour suivre les modifications subies par la cellule.

Q24. La description des 2 courbes a toujours été faite, mais parfois sans liaison entre les 2 conditions. Le candidat devait apporter une conclusion qui évoquait a minima que le système étudié protège de l'infection phagique.

Q25. La description n'a pas toujours été bien menée, car l'utilisation des 2 marqueurs fluorescents simultanément ajoutait de la complexité. Environ 40% des candidats ont compris la disparition des bactéries dans le système Ssc-CdnE03 par l'action du phage. Et que chez Ssc-CBASS, au contraire, les bactéries restent visibles car la lyse phagique n'a pas eu lieu.

Q26. Le candidat devait discuter l'action de CAP15 sur la membrane plasmique et son effet sur le cycle lytique du phage. Assez peu de candidats ont proposé que qu'un mécanisme de mort cellulaire sans lyse puisse stopper le virus et empêcher sa propagation.

Q27. Les candidats ont bien traité cette question en prenant des exemples précis et bien expliqués.

Q28. La question demandait un logigramme. Certains candidats ont choisi de réaliser un schéma d'une cellule bactérienne, ce n'était pas pertinent. Le logigramme devait simplement reprendre les événements explorés dans le sujet.

Q29. Cette dernière question permettait au candidat de montrer ses connaissances sur le mécanisme d'apoptose au niveau de cellules humaines et les liens avec les mécanismes exposés dans ce sujet sur les bactéries.