



Spécialités : Biochimie appliquée & Pharmaco-Toxicologie.

Epreuve 2 : Techniques d'analyses biologiques.

Durée : 02h

Sujet N°1

Exercice I (3 Pts)

1a) Combien de grammes de NaOH sont nécessaires pour préparer 500 mL d'une solution 40 mM ? Exprimez cette concentration en pourcent (masse/volume) = % (m/v).

1b). Quel volume de cette solution est nécessaire pour préparer 100 mL d'une solution 0,008 M ?

Données : masse molaire (M. M.) NaOH = 40 ;

% (m/v) = masse du soluté en g pour 100 mL de solution

2) Quel volume d'une solution concentrée de HCl à 28 % (masse/masse) = 28% (m/m) faut-il prélever pour préparer 2 L d'une solution 0,4 M ?

Données : M. M. HCl = 36,5 ; % (m/m) = masse du soluté en g pour 100 g de solution ;
 $d_{HCl} = 1,15 \text{ g.mL}^{-1}$

Exercice II (5,5 Pts) :

On détermine les temps de rétention (t_r) au cours d'une chromatographie sur Sephadex, des protéines suivantes dont on connaît la masse moléculaire (MM) (Le débit de la colonne est de 5 ml / min) :

	MM	t_r	$\log M$
Aldolase	145000	10,4	5,16
Lactate déshydrogénase	135000	11,4	5,13
Phosphatase alcaline	80000	18,4	4,9
Ovalbumine	45000	26,2	4,65
Lactoglobuline	37100	28,6	4,56

1 - Calculer les volumes d'éluion (V_e) correspondants. Porter le log de MM en fonction de V_e - Que remarquez-vous ?

2 - Pour la glucokinase, $t_r = 21$ min. Déterminer sa masse moléculaire à l'aide du graphique précédent. Existe-t-il une autre méthode pour déterminer la MM ? **(5 pts)**

Exercice III : (4 Pts)

On se propose de doser deux molécules (l'acide salicylique et l'acide parahydroxybenzoïque) dans un mélange.

On dispose de solutions étalons à 1 g.L^{-1} de chacun de ces acides.

On dilue au 1/100 dans HCl 0,1M les solutions étalons ainsi que la solution du mélange. On enregistre le spectre UV de ces solutions diluées entre 230 et 320 nm dans des cuves de 1 cm.

A la longueur d'onde λ_1 , maximum d'absorption de l'acide salicylique, on note les absorbances :

A1S de la solution d'acide salicylique : 0,271
 A1P de la solution d'acide parahydroxybenzoïque : 0,0
 A1M du mélange : 0,111

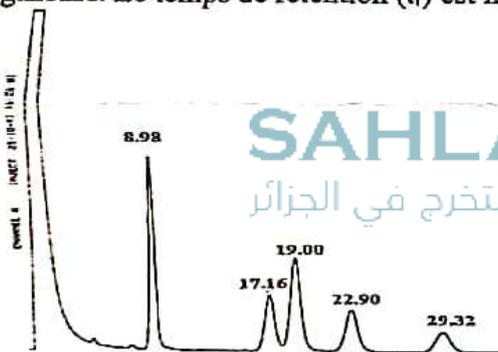
A la longueur d'onde λ_2 , maximum d'absorption de l'acide parahydroxybenzoïque, on note les absorbances :

A2S de la solution d'acide salicylique : 0,059
 A2P de la solution d'acide parahydroxybenzoïque : 1,061
 A2M du mélange : 0,866

- 1) Calculer les coefficients d'absorption spécifique de chacun des deux acides aux deux longueurs d'onde λ_1 et λ_2 .
- 2) Calculer les concentrations de chacun des deux acides dans le mélange. (5 Pts)

Exercice IV : (7,5 Pts) La chromatographie en phase gazeuse est très utilisée à des fins d'analyse.

- 1) Il existe deux techniques. Donnez en les principes en quelques lignes.
- 2) Qu'est-ce qu'une injection en mode *split* ? Quelle est la différence avec une injection en mode *splitless* ?
- 3) L'étalonnage interne est une méthode la plus générale car s'adapte à tout type de chromatographe. Quels sont les critères qui déterminent le choix de l'étalon interne ?
- 4) Le chromatogramme ci-dessous représente le profil d'élution d'esters méthyliques d'acides gras saturés et insaturés repris dans l'hexane après injection en chromatographie en phase gazeuse. Le temps de rétention (t_r) est indiqué en minutes, au-dessus de chaque pic :



t_r :	aire (%) :
8.98	30.783
17.16	15.976
19.00	29.293
22.90	14.636
29.32	8.761

Le standard interne est ici l'acide stéarique (C18 :0) qui présente un temps de rétention de 17,16 minutes. A l'aide du tableau ci-dessous, déterminer la nature des autres acides gras élués. Que représente le premier pic (t_r : 1,7 min) ? Selon quel(s) critère(s) les acides gras sont-ils élués ?

Acide gras :	Rapport t_r / t_r C18:0 :
ac. laurique (C12:0)	0,12
ac. myristique (C14:0)	0,25
ac. palmitique (C16:0)	0,52
ac. stéarique (C18:0)	1
ac. oléique (C18:1 ; 9)	1,11
ac. linoléique (C18:2 ; 9, 12)	1,33
ac. linoléique (C18:3 ; 9, 12, 15)	1,71
ac. arachidique (C20:0)	1,88
ac. arachidonique (C20:4 ; 5, 8, 11, 14)	3,24

- 5) Calculer la masse des différents produits dans l'échantillon, sachant que l'on a injecté 132 microgrammes d'esters méthyliques d'acides gras saturés et insaturés.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. Miri de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Physico-Chimique
Concours de Doctorat de la Filière : Sciences Biologiques

Spécialités : Biochimie appliquée, Pharmaco-Toxicologie, Microbiologie, Biologie de la Conservation et Biologie et Physiologie Animale

Epreuve : Génétique

Durée : 01h30

Sujet N° 2

Exercice 1 (3 points)

Soit un phage T produisant de petites plages claires. L'analyse de l'ADN de ce phage a donné les résultats suivants : A = 90 bases ; C = 50 bases ; A/T = 3 et C/G = 1/2.

1. Donnez les valeurs (nombres) des bases T et G.
2. Donnez la valeur du rapport 1 : A+G / C+T
3. Donnez la valeur du rapport 2 : A+T / C+G
4. Quelle conclusion en tirez-vous à partir du rapport 1 ?

Exercice 2 (3 points)

Soient a - b - c - d - e : 5 gènes portés par des chromosomes différents.

1. Donnez le génotype d'un individu hétérozygote pour ces gènes.
2. Quel est le nombre de types de gamètes produit par cet individu ? Quelle est la fréquence de ces gamètes ?
3. Si l'on croise cet individu avec un autre individu hétérozygote pour les mêmes gènes :
 - a- Quel sera le nombre de génotypes diploïdes que l'on obtiendra dans leur descendance ?
 - b- Quelle sera la proportion des individus totalement récessifs de cette descendance ?
4. Si ces gènes étaient portés par la même paire de chromosomes, quel serait le nombre de génotypes diploïdes obtenus dans la descendance de deux individus hétérozygotes ?

Exercice 3 (7 points)

A- On croise des drosophiles mâles sauvages [soies normales et yeux rouges] avec des femelles mutantes [soies fourchues (f) et yeux bruns (b) : mutations récessives]. On obtient une descendance composée de :

Femelles	Soies normales, yeux bruns : 294
	Soies normales, yeux rouges : 306

Mâles	Soies fourchues, yeux rouges : 295
	Soies fourchues, yeux bruns : 305

1. Quel est le génotype des parents ? Pourquoi ?
2. Quels sont les différents types de gamètes produits par chacun des parents ? Donnez leurs fréquences ?

B- On réalise un autre croisement entre des femelles sauvages [ailes longues et yeux rouges] et des drosophiles mâles mutantes [ailes courtes (c) et yeux bruns (b) : mutations récessives]. On obtient une descendance de 4000 drosophiles composée de :

Mâles	Ailes longues, yeux rouges : 842 -
	Ailes courtes, yeux bruns : 838 -
	Ailes courtes, yeux rouges : 164
	Ailes longues, yeux bruns : 156

Femelles	Ailes courtes, yeux rouges : 163
	Ailes longues, yeux bruns : 157
	Ailes courtes, yeux bruns : 843 -
	Ailes longues, yeux rouges : 837 -

1. Quel est le génotype des parents ? Pourquoi ?
2. Quels sont les différents types de gamètes produits par chacun des parents ? Quelle est leur fréquence ?
3. Quels résultats aurait-on obtenus si on avait réalisé le croisement réciproque (mâles dihybrides sauvages avec des femelles mutées) ? Pourquoi ?

Exercice 4 (7 points)

Afin de localiser les gènes sur le chromosome d'*Escherichia coli*, on réalise une expérience de conjugaison interrompue. On utilise une souche Hfr (1) obtenue à partir d'une souche F⁺ (A), dont le génotype est :

Hfr (1) : Bio⁺ T1^R His⁺ Str^S Thr⁺ Lac⁺

- 1- Quel sera le génotype de la souche F⁻ à utiliser ?
- 2- Donnez la composition du milieu de culture pour chacune de ces deux souches.
- 3- Donnez la composition minimale du milieu de conjugaison.
- 4- Pour quels caractères doit-on s'attendre à trouver des bactéries F⁻ recombinées ? Pourra-t-on effectivement recueillir chacun de ces types ? Pourquoi ?
- 5- En faisant un prélèvement toutes les minutes et en étalant chaque fois sur une série de milieux sélectifs, les lectures effectuées deux jours plus tard donnent les résultats suivants : Rien jusqu'à la 7^{ème} mn, à la 8^{ème} mn on trouve des colonies sur milieu sélectif de Thr⁺, à la 12^{ème} mn sur celui de T1^R, à la 18^{ème} mn sur celui de Lac⁺, à la 25^{ème} mn sur celui de Bio⁺ et à la 46^{ème} mn sur celui de His⁺.
 - a- Quelle est la composition de chacun des milieux sélectifs ?
 - b- Etablir la carte génétique de cette souche Hfr (1).
- 6- Deux expériences similaires effectuées avec deux autres Hfr, Hfr (2) et Hfr (3), appartenant à la même souche A, ont donné les résultats suivants :
 - Hfr (2) : au bout de 10 mn, on a trouvé des F⁻ recombinées Xyl⁺, de 16 mn des Str^S, de 31 mn des Phe⁺, de 42 mn des His⁺ et de 63 mn des Bio⁺.
 - Hfr (3) : au bout de 6 mn, on a trouvé des F⁻ recombinées His⁺, de 20 mn des Try⁺, de 27 mn des Bio⁺, de 37 mn des Pro⁺ et de 42 mn des Leu⁺.

A l'aide des Hfr (1), (2) et (3), établir la position des gènes sur le chromosome de la souche A d'*Escherichia coli*.

Remarque : choisir la représentation linéaire graduée de 90 mn.