BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2018

CBSV : sous épreuve coefficient 4
Biotechnologies : sous épreuve coefficient 4

———

Durée totale de l'épreuve: 4 **heures**

Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités sur des copies séparées.

Dès que les sujets vous sont remis, assurez-vous qu'ils sont complets.

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialités :
- **Biotechnologies**
- **Sciences physiques et chimiques en laboratoire**

SESSION 2018

Sous-épreuve écrite de Chimie – biochimie – sciences du vivant

Coefficient de cette sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

Les sujets de CBSV et de spécialité seront traités sur des copies séparées.

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

Ce sujet comporte **11** pages.

Partie 1 : pages 2 à 5
Partie 2 : pages 6 à 11

Les 2 parties sont indépendantes.

PARTIE I : production d'électricité à partir d'un cactus (8 points)

Une équipe de chercheurs du CNRS a proposé une stratégie nouvelle, écologique et renouvelable dans la conversion de l'énergie solaire en énergie électrique. Ils ont ainsi produit une biopile qu'ils ont insérée dans un cactus. Ils ont démontré que cette pile pouvait générer une puissance suffisante pour allumer une lampe.

Cette partie a pour objectif d'étudier le fonctionnement de la biopile.

Production de glucose par le cactus

Le **document A** présente une version simplifiée des échanges avec le milieu extérieur intervenant dans la synthèse du glucose chez le cactus.

1.1 Nommer le processus métabolique qui permet la production de glucose chez le cactus. Indiquer l'organite dans lequel se déroule ce processus.

1.2 Préciser la source de carbone et la source d'énergie utilisées par le cactus. En déduire son type trophique.

Fonctionnement de la biopile

La biopile contient deux enzymes : la glucose oxydase (GOx) et la bilirubine oxydase (BOD). La GOx catalyse la transformation du glucose en gluconolactone (**document B**). Elle est généralement produite industriellement à l'aide d'un organisme eucaryote, par exemple *Aspergillus niger*.

1.3 Indiquer la nature biochimique d'une enzyme et le nom des molécules élémentaires qui la constituent.

1.4 Citer les deux étapes principales permettant la synthèse de la glucose oxydase à partir de son gène chez *Aspergillus niger*, et préciser pour chaque étape leur localisation cellulaire.

1.5 La molécule de gluconolactone comporte différentes fonctions. Recopier cette molécule sur la copie. Entourer un groupe caractéristique d'une de ces fonctions et la nommer.

Le principe du fonctionnement de la biopile est présenté dans le **document C.** Les réactions permettant la production d'électricité sont des réactions d'oxydo-réduction.

1.6 Indiquer le donneur initial d'électrons et l'accepteur final d'électrons dans la biopile.

1.7 Écrire les demi-équations d'oxydo-réduction pour les couples oxydant/réducteur suivants : O_2/H_2O et gluconolactone/glucose. Les formules brutes pourront être utilisées.

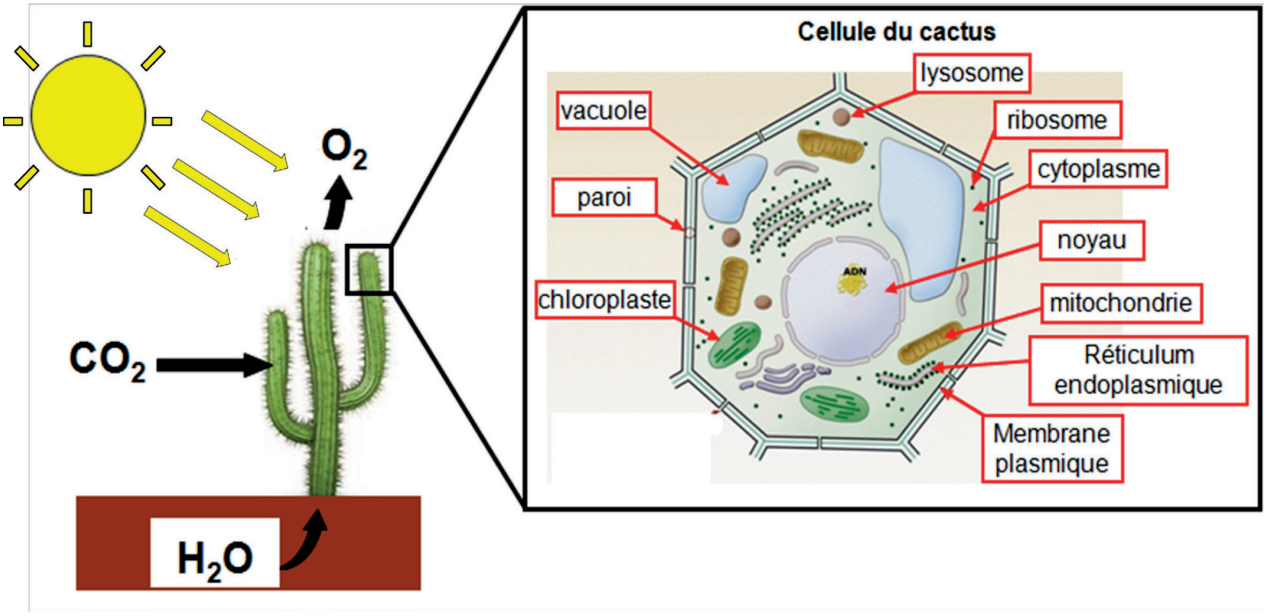
1.8 En déduire l'équation de la réaction entre le glucose et le dioxygène se déroulant dans la biopile.

1.9 À 37 °C et pH = 7, l'enthalpie libre standard de la réaction précédente entre le dioxygène et le glucose, notée $\Delta_rG°'$, est liée à la différence des potentiels standard $\Delta E°'$. À l'aide des données suivantes, calculer $\Delta_rG°'$ et indiquer si la réaction est favorisée ou non.

Données :

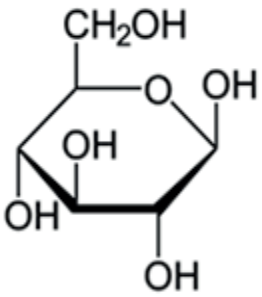
- $\Delta_rG°' = - n.F. \Delta E°'$
- $E_1°'$ (O_2/H_2O) = + 0,81 V et $E_2°'$ (gluconolactone/glucose) = - 0,57 V
- n = nombre d'électrons échangés
- Constante de Faraday F = 96 500 $C.mol^{-1}$

Document A : échanges intervenant dans la synthèse du glucose et ultrastructure d'une cellule de cactus

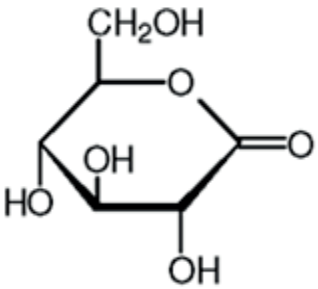


Adapté de www.gnis-pedagogie.org/biotechnologie-biologie-cellule-vegetale.html

Document B : formules chimiques du glucose et de la gluconolactone

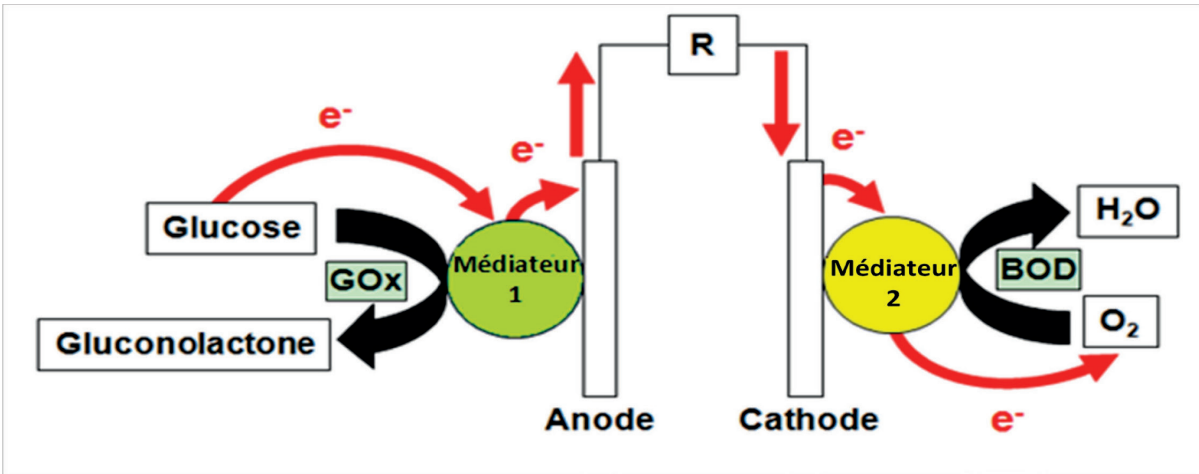


glucose
(β-D-glucopyranose)
$C_6H_{12}O_6$



gluconolactone
(D-glucono-1,5-lactone)
$C_6H_{10}O_6$

Document C : principe de fonctionnement de la biopile



Adapté de Mano et al, JACS, 2003, 125, 6588-6594

Ce système génère un courant électrique (circulation des électrons entre l'anode et la cathode).
À l'anode, les électrons sont transférés du glucose vers l'électrode grâce au médiateur 1.
À la cathode, les électrons sont transférés de l'électrode au dioxygène grâce au médiateur 2.
Ces réactions de transferts d'électrons sont catalysées par des enzymes : la glucose oxydase (GOx) et la bilirubine oxydase (BOD).

PARTIE II : étude d'une maladie auto-immune, la sclérose en plaques (SEP) (12 points)

La sclérose en plaques est une maladie auto-immune qui touche plus de 100 000 personnes en France.
Une maladie auto-immune résulte d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui s'attaque aux constituants sains de l'organisme. Dans le cas de la SEP, le système immunitaire de l'individu s'attaque à des composants du système nerveux central.
Les symptômes de la maladie varient d'une personne à l'autre en fonction de la zone du système nerveux touchée : on peut notamment observer des troubles de l'équilibre, de l'activité musculaire ou une baisse de la vision.

Le but de cette partie est d'étudier le mécanisme à l'origine de la sclérose en plaques et d'analyser certaines causes possibles.

L'origine de la sclérose en plaques

Dans la sclérose en plaques, l'une des principales cibles du système immunitaire est la gaine de myéline qui entoure l'axone des neurones (**document D**). Cette dernière est progressivement détruite.

2.1 À partir de l'exploitation du **document E**, indiquer deux paramètres qui influencent la vitesse de transmission de l'influx nerveux.

2.2 Émettre une hypothèse expliquant la diminution de l'activité musculaire observée chez les patients atteints de sclérose en plaques.

De nombreuses recherches portent sur les mécanismes immunitaires à l'origine de la sclérose en plaques. Le **document F** présente deux mécanismes immunitaires impliqués dans l'apparition et le développement de cette maladie.

2.3 Nommer chacun des deux mécanismes immunitaires impliqués dans le développement de la sclérose en plaques. Justifier le terme « maladie auto-immune » attribué à la SEP.

Recherche d'une prédisposition génétique de la sclérose en plaques

Plusieurs études ont été menées afin de comprendre l'origine du dérèglement du système immunitaire.

Récemment, un facteur génétique a été mis en évidence. Il s'agit d'une mutation du gène NR1H3 (**document G**) qui code la protéine LXRA impliquée dans le processus de réparation de la gaine de myéline.

2.4 Écrire les séquences d'ARNm correspondant à l'allèle de référence et à l'allèle muté du gène NR1H3.

2.5 À l'aide du code génétique fourni **(document de référence)**, écrire les séquences polypeptidiques correspondant à l'allèle de référence et à l'allèle muté du gène NR1H3.

2.6 Comparer les séquences polypeptidiques, puis indiquer les conséquences possibles sur la structure et la fonction de la protéine LXRA mutée.

2.7 Formuler une hypothèse reliant ces conséquences au développement de la sclérose en plaques.

Recherche d'un facteur environnemental prédisposant à la sclérose en plaques

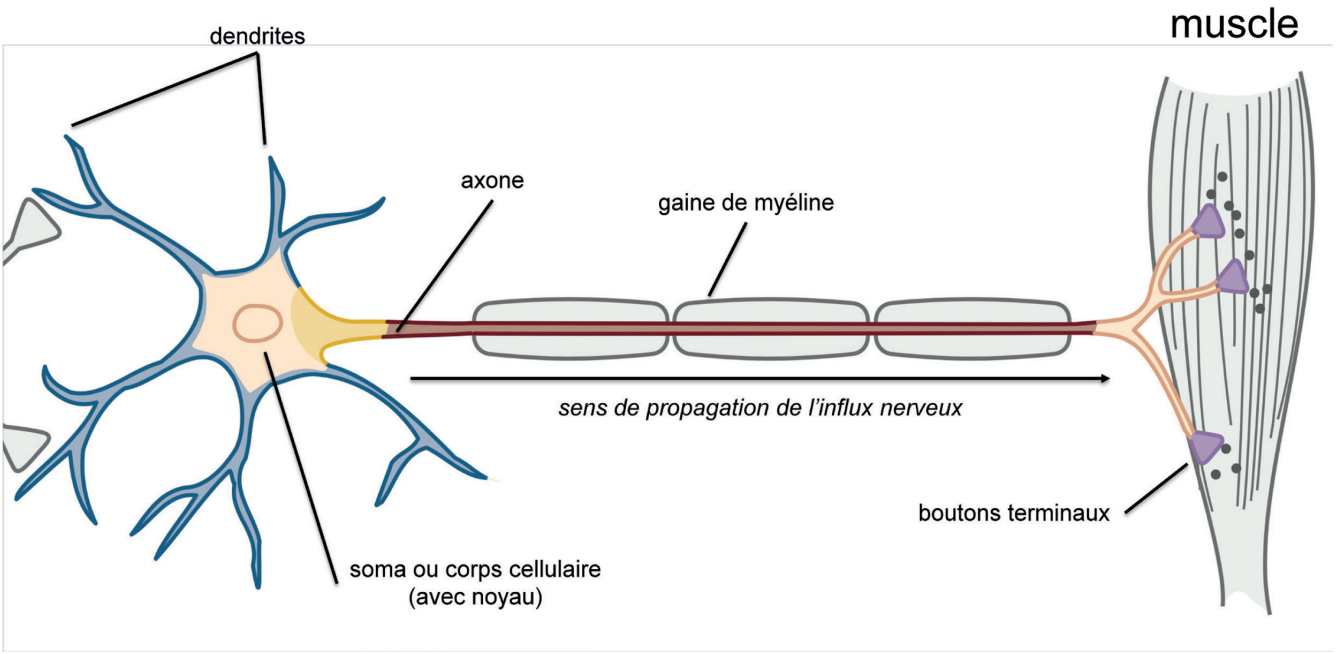
Le **document H** présente les résultats d'une étude portant sur l'influence de différents facteurs sur la prévalence de la sclérose en plaques.

2.8 À partir du **document H** et sachant que les rayons UV sont nécessaires à la production de vitamine D, discuter du lien éventuel entre l'ensoleillement et le développement de la sclérose en plaques.

Synthèse

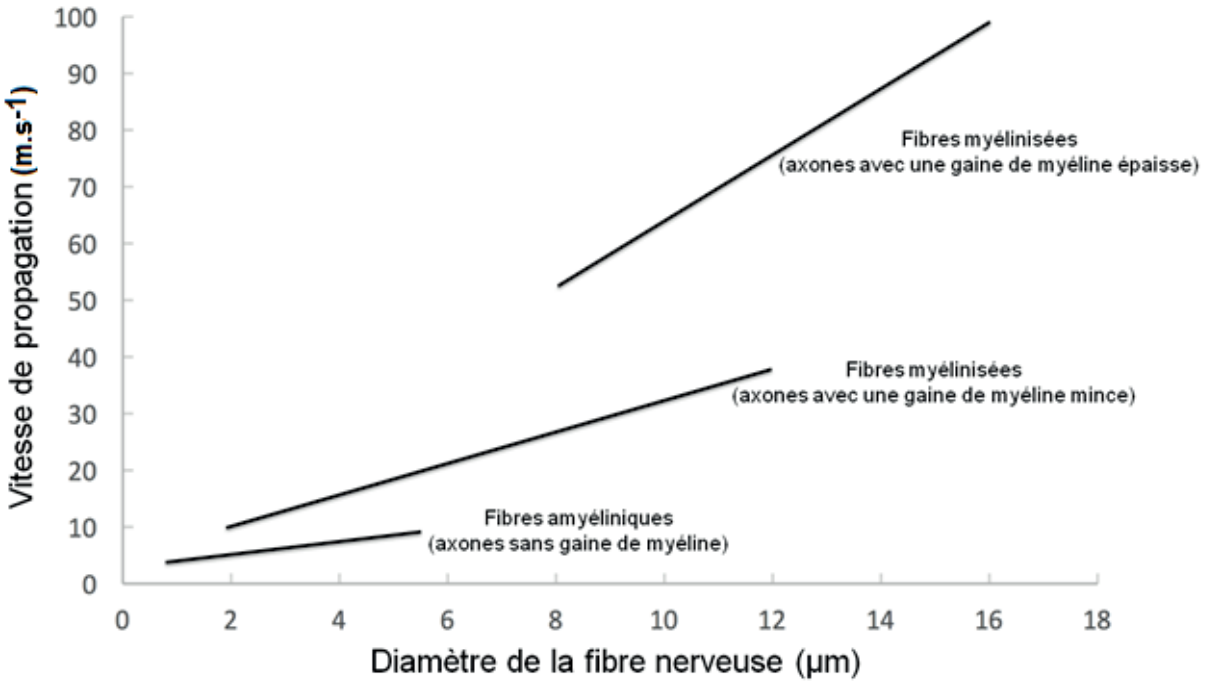
2.9 À partir de l'ensemble des données, réaliser un schéma de synthèse représentant l'origine multifactorielle de la sclérose en plaques.

Document D : représentation schématique de la structure d'un neurone contrôlant un muscle



Adapté de Kandel et al, Principles of Neural Science, 5ème édition, 2013.

Document E : vitesse de propagation de l'influx nerveux le long de différents types de fibres nerveuses

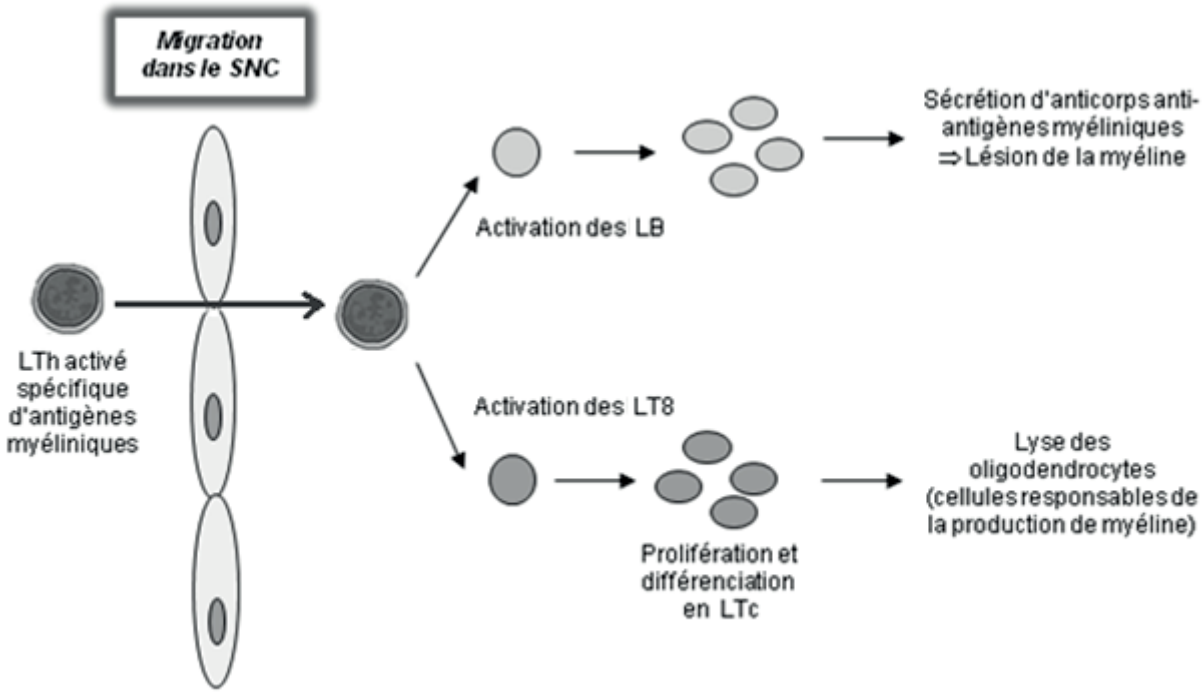


Adapté de http://www.apag-asso.org/site/sclerose-en-plaques/

Document F : deux mécanismes immunologiques à l'origine de la sclérose en plaques

Dans le sang de patients atteints de sclérose en plaques, on a détecté des LT4 spécifiques d'antigènes myéliniques (antigènes localisés sur la gaine de myéline).

Dans certaines conditions encore peu comprises, ces LT4 s'activent et se différencient en LTh spécifiques d'antigènes myéliniques. Ces LTh migrent alors dans le système nerveux central (SNC).



Barrière hémato-encéphalique (BHE) qui sépare la circulation sanguine générale du système nerveux central

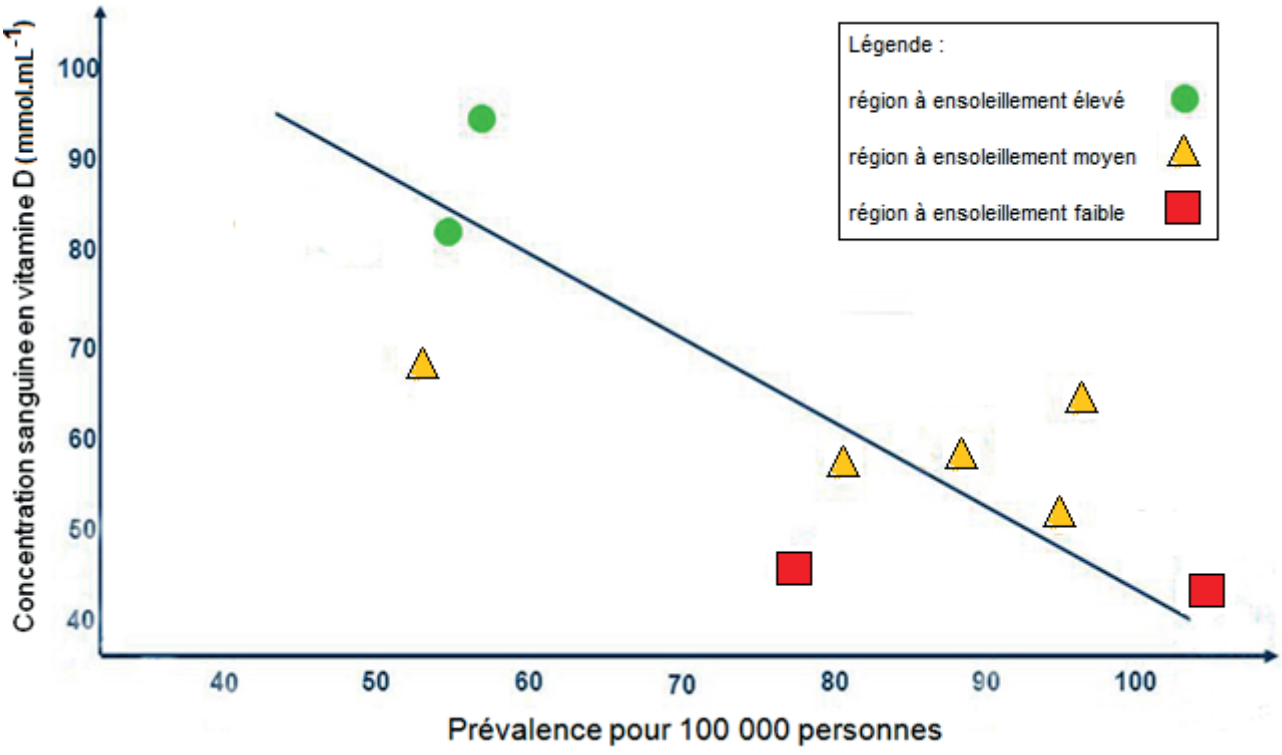
LB : lymphocyte B
LT4 : lymphocyte T4
LT8 : lymphocyte T8
LTc : lymphocyte T cytotoxique (ou *killer)*
LTh : lymphocyte T auxiliaire (ou *helper*)

Document G : portions des séquences des brins non transcrits de l'allèle de référence et de l'allèle muté du gène NR1H3 codant la protéine LXRA

			nucléotide 994 ↓												nucléotide 1011 ↓	
Allèle de référence	(brin non transcrit)	5'	C	A	A	C	C	C	C	A	T	C	T	T	C	G	A	G	T	T	3'
Allèle muté	(brin non transcrit)	5'	C	A	A	C	C	C	C	A	T	C	T	T	C	A	A	G	T	T	3'

Document H : concentration sanguine en vitamine D en fonction de la prévalence de la sclérose en plaques dans neuf régions françaises à l'ensoleillement variable

Dans ce document, la prévalence correspond au nombre de malades sur 100 000 personnes, dans une zone précise et à un moment donné.



Adapté de P. Vermersch (CHRU de Lille)
données de Chapuy et al, Livre blanc de la SEP (1996)

Document de référence : tableau présentant le code génétique

PREMIER NUCLEOTIDE	DEUXIÈME NUCLEOTIDE U	DEUXIÈME NUCLEOTIDE C	DEUXIÈME NUCLEOTIDE A	DEUXIÈME NUCLEOTIDE G	TROISIEME NUCLEOTIDE
U	UUU Phé	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	**U**
	UUC Phé	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	**C**
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	**A**
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	**G**
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	**U**
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	**C**
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	**A**
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	**G**
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	**U**
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	**C**
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	**A**
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	**G**
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	**U**
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	**C**
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	**A**
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	**G**

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2018

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités sur des copies séparées.

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

Ce sujet comporte **10** pages.

Le document 2 page 6 est à rendre avec la copie.

Compétences évaluées					
C1 Extraire une information	**C2** Analyser un document	**C3** Expliquer une démarche	**C4** Argumenter une réponse	**C5** Construire une synthèse	**C6** S'exprimer à l'écrit
1 point	5 points	3 points	5 points	5 points	1 point

RÉSISTANCE BACTÉRIENNE À LA SULFADIAZINE ET APPROCHE D'UNE NOUVELLE STRATÉGIE THÉRAPEUTIQUE

Chez les grands brûlés, les infections représentent la première cause de mortalité.

Le traitement de référence contre ces infections est une antibiothérapie à base de sulfadiazine argentique (SDZ). Les médecins sont de plus en plus confrontés à l'apparition de souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques.

Devant ce phénomène, une autre approche thérapeutique est envisagée : la phagothérapie. Elle consiste à utiliser des phages ou des mélanges de phages virulents pour lutter contre les bactéries responsables d'infections.

Ce traitement alternatif est envisagé par une entreprise de biotechnologies en vue de traiter les patients infectés par des souches résistantes à la SDZ.

L'étude réalisée par l'entreprise comprend les étapes suivantes :
- étude du mécanisme de résistance à la SDZ :
  - sélection de bactéries résistantes à la SDZ ;
  - mise en évidence du gène responsable de la résistance.
- évaluation de l'efficacité de la phagothérapie sur une souche sélectionnée.

1. ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE À LA SULFADIAZINE (SDZ)

Escherichia coli est une des bactéries les plus fréquemment retrouvées dans les infections des grands brûlés.

Trois souches d'*Escherichia coli* (A, B et C) ont été isolées à partir de trois plaies de patients différents. L'entreprise souhaite sélectionner celles qui sont résistantes à la SDZ.

1.1. Sélection de souches résistantes

Un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé est réalisé pour chacune des souches A, B et C.

Le **document 1** présente les résultats de ces antibiogrammes après incubation 24 h à 37 °C.

Q1. Identifier le comportement des trois souches vis-à-vis de la SDZ. Expliquer le raisonnement.

Q2. En déduire la ou les souche(s) pouvant être sélectionnée(s) pour l'étude.

1.2. Mise en évidence du gène responsable de la résistance par PCR

L'entreprise a mis au point une technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) pour amplifier un fragment du gène *sul1*, gène présent uniquement chez les bactéries résistantes.
La séquence nucléotidique correspondant au fragment à amplifier du gène *sul1* est présentée dans le **document 2**.

Q3. Choisir et positionner sur le **document 2 (à rendre avec la copie)**, les séquences du couple d'amorces approprié (couple X ou couple Y) pour réaliser la PCR.

Q4. Argumenter le choix du couple d'amorces.

Q5. Calculer la taille attendue pour le fragment amplifié avec ce couple d'amorces.

Les résultats de la PCR sur les souches A, B et C sont présentés dans le **document 3**.

Q6. Montrer, à partir de leur composition, le rôle de chaque témoin.

Q7. Analyser les résultats obtenus pour les souches A, B et C.

Q8. Vérifier si ces résultats sont en cohérence avec les résultats des antibiogrammes.

2. ÉTUDE DU MÉCANISME D'ACTION DE LA SULFADIAZINE (SDZ) ET DE LA RÉSISTANCE À CET ANTIBIOTIQUE

La SDZ, antibiotique de la famille des sulfamides, est un inhibiteur d'une enzyme bactérienne : la dihydroptéroate synthétase. Cette enzyme est impliquée dans la biosynthèse de l'acide folique nécessaire à la fabrication des bases puriques et pyrimidiques des acides nucléiques (ADN et ARN).

2.1. Mode d'action de la sulfadiazine (SDZ)

L'entreprise cherche à déterminer le mode d'inhibition enzymatique de la SDZ sur la dihydroptéroate synthétase.

Pour cela, elle détermine les paramètres cinétiques de l'enzyme, v_{imax} et K_M, en présence et en absence de SDZ, pour un même substrat S. Les droites selon la représentation de Lineweaver-Burk dans ces deux conditions sont fournies dans le **document 4**.

L'entreprise a déterminé les constantes cinétiques de l'enzyme en absence et en présence de SDZ :

	Sans SDZ	Avec SDZ
v_{imax} ($\mu mol \cdot min^{-1} \cdot L_{MR}^{-1}$)	25	16,7
K_M ($\mu mol \cdot L_{MR}^{-1}$)	0,625	0,625

Q9. Vérifier les valeurs déterminées par l'entreprise de v_{imax} et K_M de la dihydroptéroate synthétase en absence de SDZ en expliquant la démarche suivie.

Q10. Montrer que l'inhibition exercée par la SDZ sur la dihydroptéroate synthétase est non compétitive.

2.2. Mécanisme de résistance des bactéries à la sulfadiazine (SDZ)

Le gène *sul1* code pour une dihydroptéroate synthétase additionnelle dont l'activité s'ajoute à celle de l'enzyme déjà présente chez toutes les bactéries.
Les paramètres cinétiques K_M et v_{imax} de l'enzyme additionnelle ne sont pas modifiés par la présence de SDZ.

Le **document 5** expose les différents modes de résistance bactérienne aux antibiotiques.

Q11. Identifier le mécanisme de résistance à la SDZ développé par les bactéries sélectionnées et argumenter ce choix.

Q12. Recopier le schéma de synthèse proposé dans le **document 6,** lui donner un titre et le compléter en y positionnant les termes suivants :

- dihydroptéroate synthétase ;
- SDZ ;
- bases azotées ;
- dihydroptéroate synthétase additionnelle.

3. ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE LA PHAGOTHÉRAPIE SUR UNE SOUCHE DE *E. COLI* RÉSISTANTE À LA SULFADIAZINE (SDZ)

L'entreprise de biotechnologies envisage d'incorporer des phages, comme le sont les antibiotiques, dans le gel hydro-colloïde constituant les pansements appliqués sur les brûlures.

Pour étudier la capacité du phage Eco1 à lyser une des souches résistantes d'*Escherichia coli*, un suivi turbidimétrique de la croissance de la souche est effectué en absence et en présence du phage. Les résultats sont présentés dans le **document 7**.

Q13. Commenter l'effet du phage Eco1 entre le temps correspondant à son ajout et le temps t = 8 h de la croissance.

Q14. Proposer une hypothèse permettant d'expliquer le phénomène observé à partir du temps t = 8 h de croissance, en présence du phage Eco1.

La même expérience a été réalisée en présence d'un mélange de deux phages Eco1 et Eco2. Les résultats sont présentés dans le **document 8**.

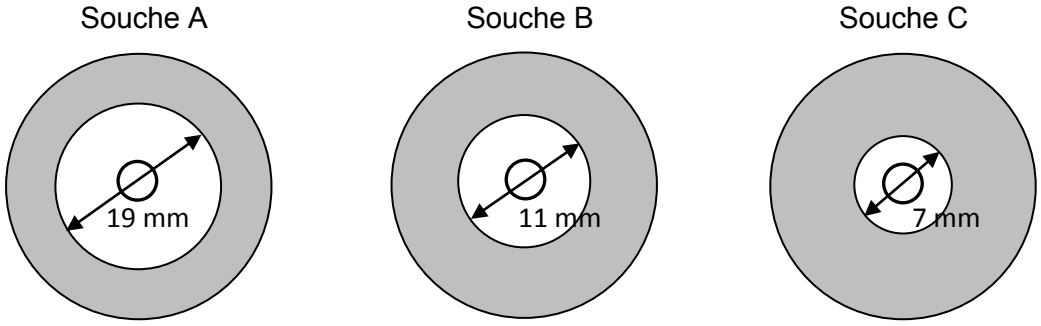
Q15. Comparer la courbe de croissance d'*E. coli* avec le mélange de phages par rapport à celle avec le phage Eco1 seul et conclure.

SYNTHÈSE

Q16. Proposer une prescription possible de pansements adaptés pour traiter :

- un grand brûlé qui serait infecté par la souche A d'*Escherichia coli ;*
- un grand brûlé qui serait infecté par la souche C d'*Escherichia coli*.

DOCUMENT 1 – Résultats des antibiogrammes réalisés sur les trois souches A, B et C



Légende :
- Zone de croissance bactérienne
- Zone d'inhibition
- Disque de sulfadiazine (SDZ)

Antibiotique	**d (mm)**	**D (mm)**	**Cci (mg·L^{-1})**	**Ccs (mg·L^{-1})**
Sulfadiazine	12	17	64	256

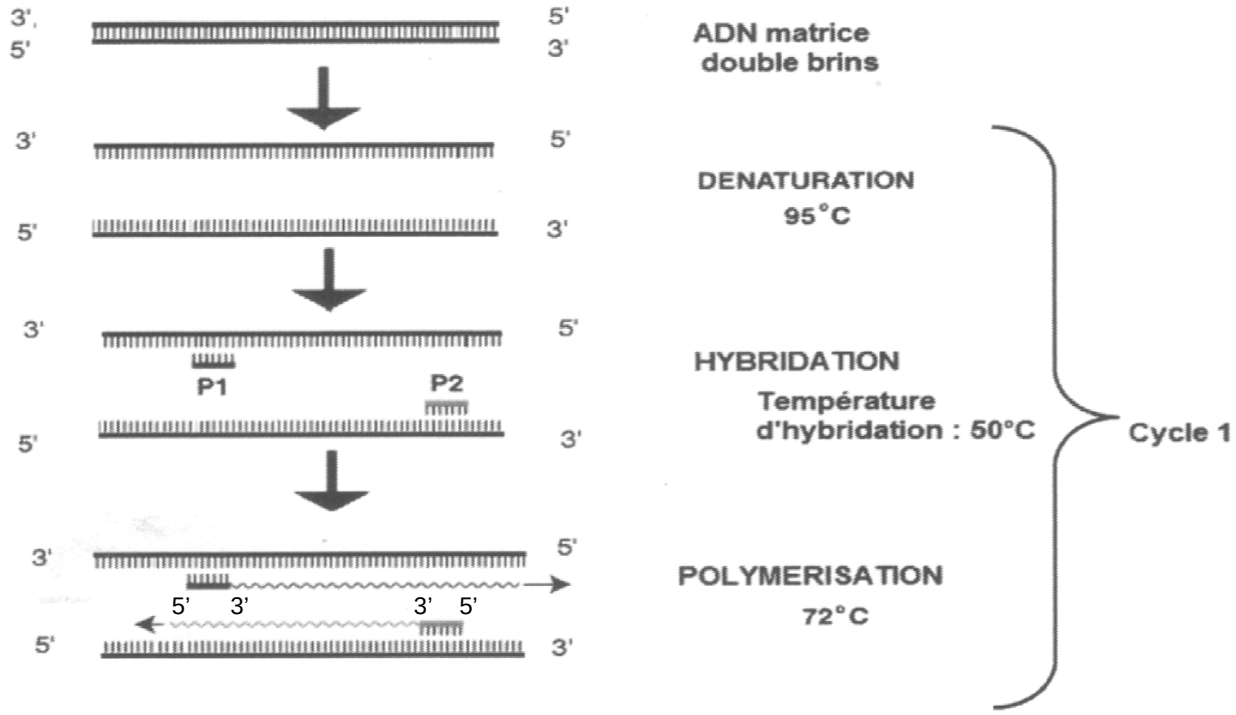
d = diamètre correspondant à la **Ccs** (Concentration critique supérieure)

D = diamètre correspondant à la **Cci** (Concentration critique inférieure)

(À RENDRE AVEC LA COPIE)

DOCUMENT 2 - PCR du gène de résistance à la sulfadiazine (*sul1*)

Illustration de la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction)



Données *: P1et P2 = couple d'amorces*

Couples d'amorces disponibles

Couple X : 5' CGG CGT GGG CAT CCT GAA CG 3'

3' GCC TTG AAG TGC GCT AGC CG 5'

Couple Y : 5' CGG AAC TTC ACG CGA TCG GC 3'

3' GCC GCA CCC GTA GGA CTT GC 5'

Séquences du fragment d'ADN à amplifier (document à compléter)

Région de 433 pb

3' GCC GCA CCC GTA GGA CTT GC……..GCC TTG AAG TGC GCT AGC CG **5'**

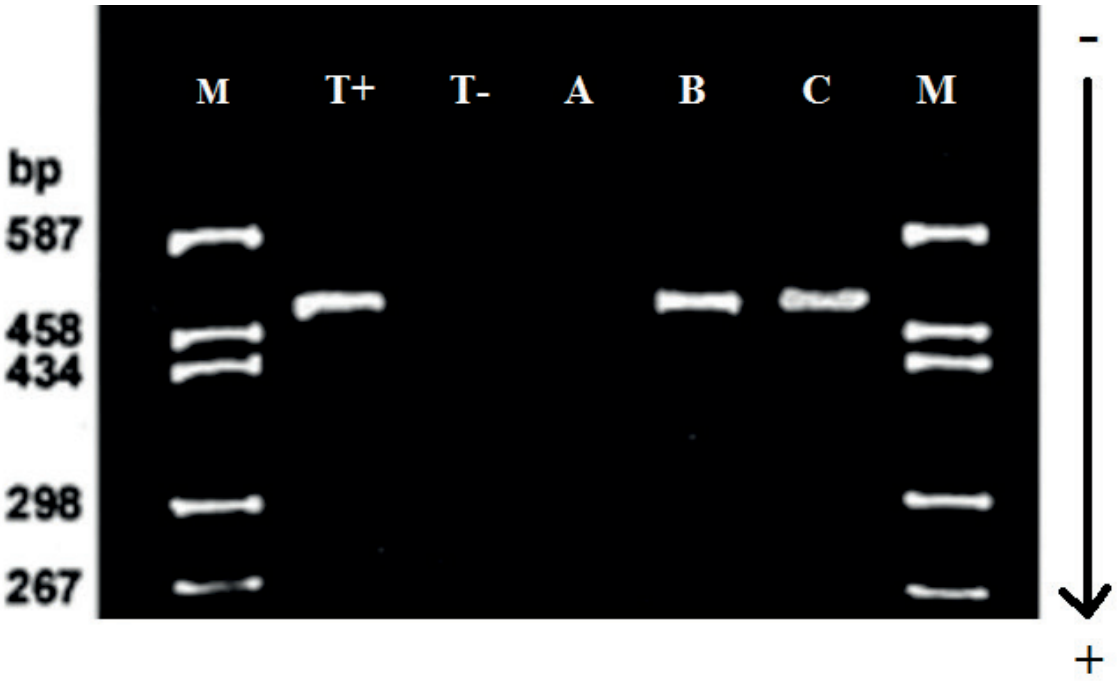
5' CGG CGT GGG CAT CCT GAA CG……CGG AAC TTC ACG CGA TCG GC **3'**

Fragment d'ADN à amplifier

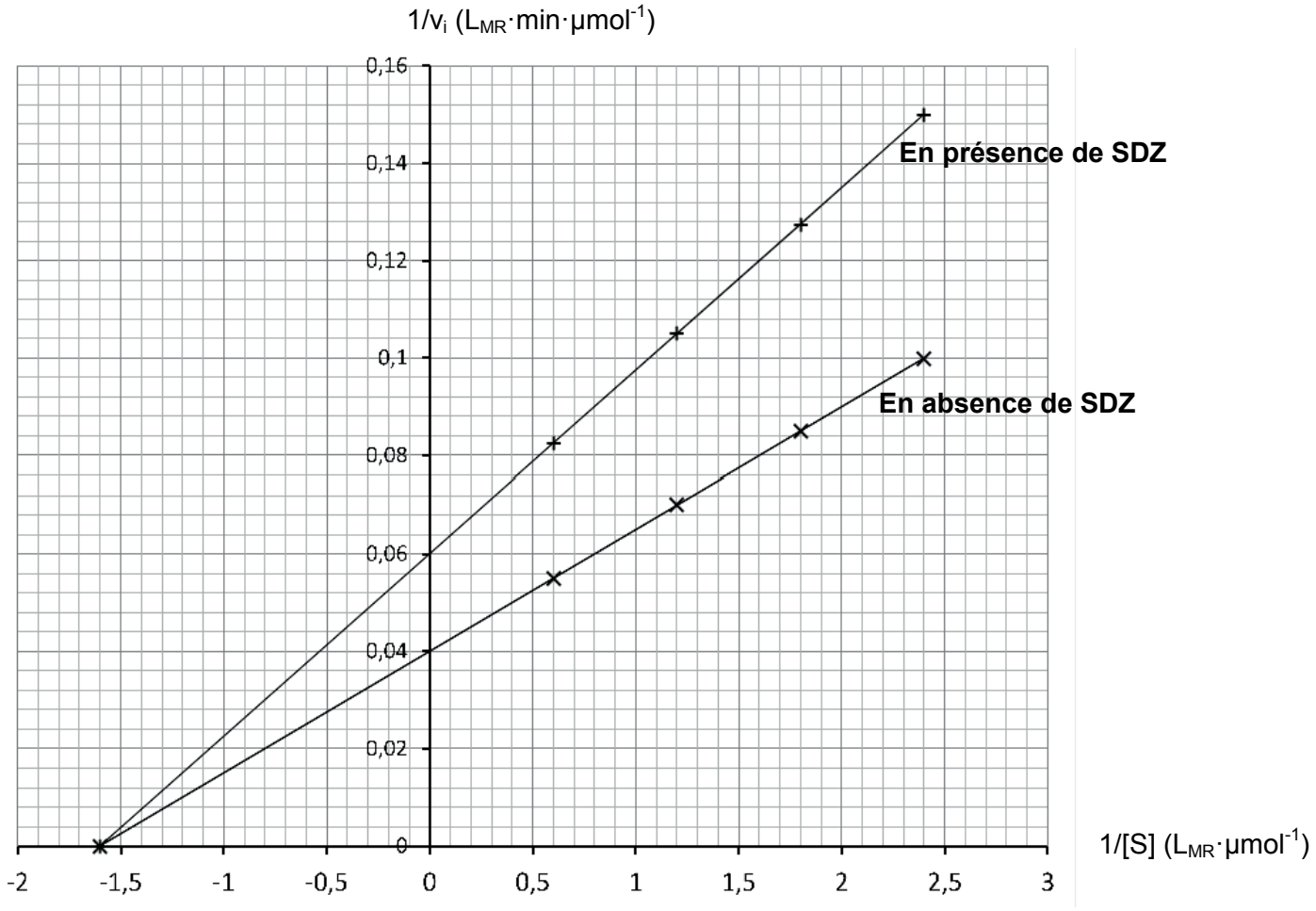
DOCUMENT 3 - Électrophorégramme obtenu après PCR spécifique du gène de résistance à la sulfadiazine (*sul1*)

La PCR est réalisée à l'aide du couple d'amorces choisi précédemment.

- Les puits M correspondent au marqueur de taille.
- Le puits T+ correspond au résultat de la PCR réalisée avec une souche d'*E.coli* résistante à la SDZ.
- Le puits T- correspond au résultat de la PCR réalisée sans ADN matrice.
- Les puits A, B et C correspondent aux résultats de la PCR réalisée respectivement avec les souches A, B et C.



DOCUMENT 4 - Représentation de Lineweaver-Burk pour l'étude de l'effet de la sulfadiazine (SDZ) sur la dihydroptéroate synthétase



Équation de la droite, en absence de SDZ :

$y = a \cdot x + b$

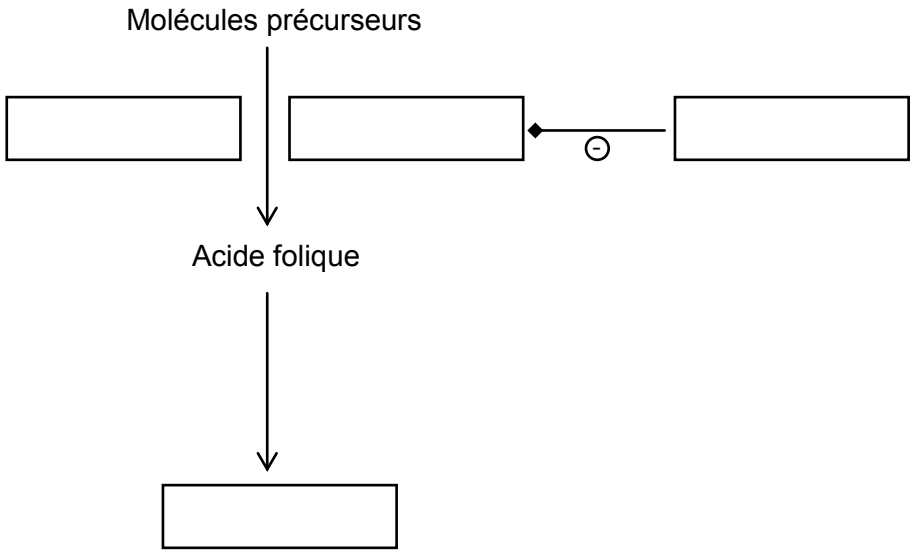
$1/v_i = (K_M/v_{imax}) \cdot 1/[S] + 1/v_{imax}$

- v_i : vitesse initiale
- $[S]$: concentration en substrat ou $c_{(substrat\ ;\ milieu\ réactionnel)}$
- v_{imax} : vitesse initiale maximale
- K_M : constante de Michaelis
  concentration en substrat pour laquelle $v_i = v_{imax}/2$

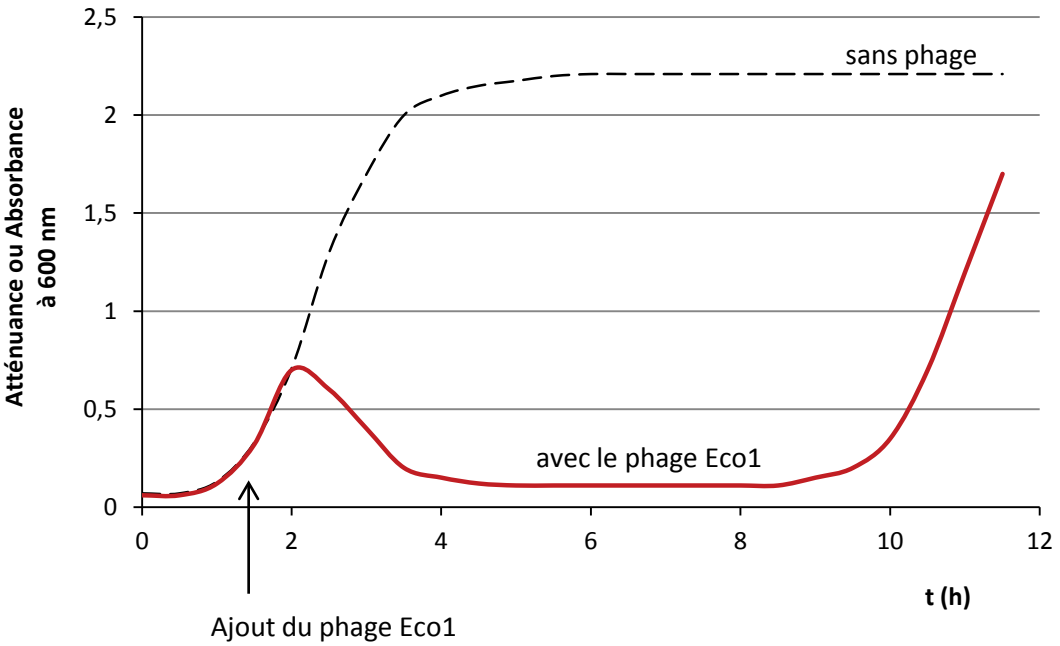
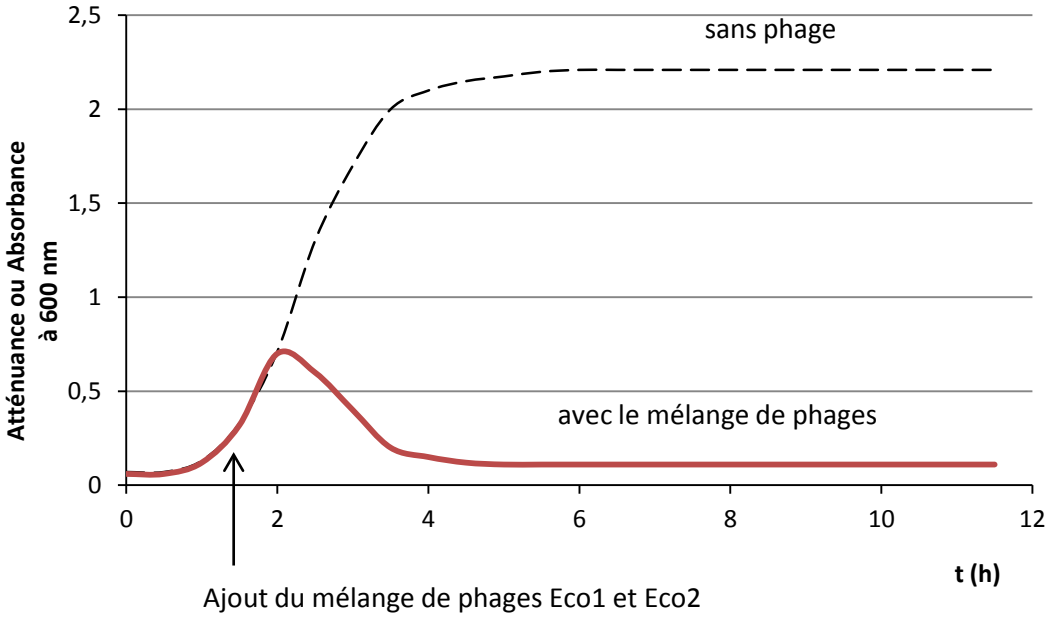
DOCUMENT 5 - Modes de résistance bactérienne aux antibiotiques

Brouillage	Blindage	Camouflage	Esquive
Inactiver l'antibiotique et le rendre inoffensif.	Empêcher l'entrée de l'antibiotique dans la cellule.	Modifier la cible de l'antibiotique et la rendre insensible à son action.	Remplacer la cible de l'antibiotique par une molécule supplémentaire non vulnérable.

DOCUMENT 6 - Schéma de synthèse



DOCUMENT 7 – Etude de l'influence du phage Eco1 sur la croissance d'une souche d'*Escherichia coli* résistante à la SDZ



DOCUMENT 8 - Etude de l'influence d'un mélange de phages sur la croissance d'une souche d'*Escherichia coli* résistante à la SDZ