

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2015

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

LUNDI 22 JUIN 2015

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 la calculatrice est autorisé.

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

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

SESSION 2015

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

Lundi 22 juin 2015

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 la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte **6** pages.

Partie 1 : pages 2 à 3

Partie 2 : pages 4 à 6

Les 2 parties sont indépendantes.

Conséquences écologiques de l'accident nucléaire de Fukushima

PARTIE I - Utilisation d'une bactérie photosynthétique pour traiter les sols contaminés dans la région de Fukushima (8 points)

L'accident nucléaire du 11 mars 2011 survenu dans la région de Fukushima Daiichi au Japon a causé une importante pollution radioactive des sols dont la plus préoccupante est celle au césium radioactif 137 (^{137}Cs). Le césium 137 se dépose sur la végétation et sur les sols à cause de la pluie et de la décomposition des feuilles mortes.

L'objet de cette première partie est l'étude de l'utilisation de microorganismes pour limiter la pollution radioactive des sols.

QUESTIONS

À l'aide des **documents A et B** et des connaissances acquises lors de la formation, répondre aux questions suivantes :

- 1.1. Les réactions métaboliques permettant à *L. casei* de transformer le glucose en lactate appartiennent au catabolisme. Justifier cette affirmation.
- 1.2. Recopier, sur la copie, la formule de l'acide lactique représentée dans le **document B**. Entourer les groupes caractéristiques et nommer les fonctions chimiques correspondantes.
- 1.3. Indiquer à l'aide d'astérisque(s) (*) sur la formule de l'acide lactique le (ou les) éventuel(s) atome(s) de carbone asymétrique(s).
Proposer une représentation de Cram d'un stéréo-isomère de cette molécule.

La réaction de fermentation lactique est une réaction d'oxydoréduction.

- 1.4. Ecrire les demi-équations d'oxydoréduction relatives aux couples présentés dans le **document B**.
- 1.5. Ecrire l'équation de la réaction d'oxydoréduction favorisée mettant en jeu ces deux couples. Justifier la réponse.
- 1.6. Identifier l'espèce qui subit la réduction lors de cette fermentation en justifiant ce choix.
- 1.7. L'enthalpie libre standard de réaction de la formation du lactate à partir du pyruvate est $\Delta_r G^0 = -25 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Préciser, en le justifiant, si la réaction est endergonique ou exergonique.
- 1.8. Parmi les informations suivantes, reporter la proposition correcte et justifier ce choix.

Proposition 1	<i>Lactobacillus casei</i> et <i>Rhodobacter sphaeroïdes</i> sont lithotrophes
Proposition 2	<i>Lactobacillus casei</i> et <i>Rhodobacter sphaeroïdes</i> sont organotrophes
Proposition 3	<i>Lactobacillus casei</i> est organotrophe et <i>Rhodobacter sphaeroïdes</i> est lithotrophe
Proposition 4	<i>Lactobacillus casei</i> est lithotrophe et <i>Rhodobacter sphaeroïdes</i> est organotrophe

- 1.9. À l'aide du **document A**, proposer une hypothèse pour expliquer pourquoi le milieu de vie de la bactérie *Rhodobacter sphaeroïdes* est restreint aux couches superficielles du sol.
- 1.10. En déduire comment l'action de *Rhodobacter sphaeroïdes* permet de limiter la diffusion de la pollution au césium 137 radioactif dans le sol.

DOCUMENTS

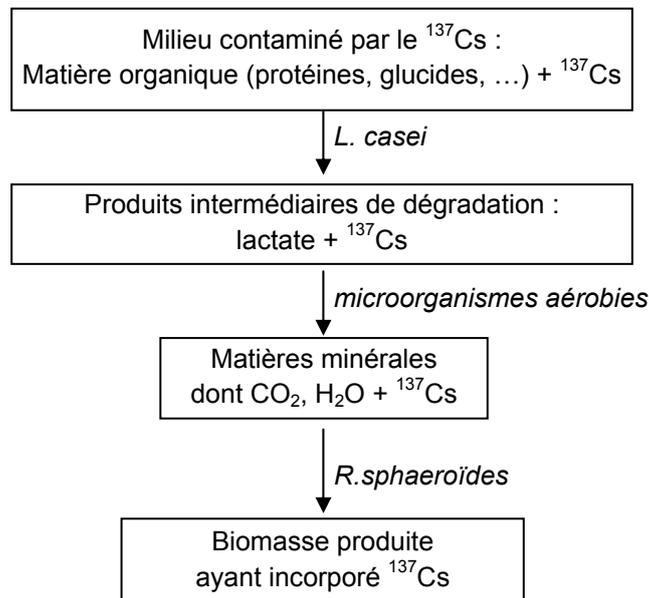
Document A : microorganismes et piégeage de la radioactivité d'un sol contaminé

Document B : la fermentation lactique chez *Lactobacillus casei*

Document A : microorganismes et piégeage de la radioactivité d'un sol contaminé

Des chercheurs japonais de l'université Hiroshima Kokusai Gakuin ont mis au point un procédé permettant de piéger le césium radioactif ^{137}Cs en surface :

- la couche superficielle radioactive est préalablement traitée par une bactérie lactique, *Lactobacillus casei*, qui dégrade les molécules organiques par fermentation,
- la minéralisation est ensuite achevée par des microorganismes aérobies,
- les matières minérales issues de ces traitements, dont le césium radioactif, sont ensuite incorporées par *Rhodobacter sphaeroïdes*, une bactérie photosynthétique.



Document B : la fermentation lactique chez *L. casei*

$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{CH}-\text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{CH}-\text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{O}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \backslash \quad / \\ \text{C}-\text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{O}^- \end{array}$
Acide lactique	Ion lactate noté AH_2^-	Ion pyruvate noté A^-

Pyruvate (A^-) / lactate (AH_2^-)	$E_1^{0'} = -0,185 \text{ V}$
$\text{NAD}^+ / \text{NADH}, \text{H}^+$	$E_2^{0'} = -0,320 \text{ V}$

PARTIE II - Les effets de la radioactivité sur les papillons bleus du Japon (12 points)

Pseudaesha maha est un papillon bleu vivant en Asie. C'est un bio-indicateur de la qualité de l'environnement qui permet d'évaluer les effets de la radioactivité.

Deux mois après l'accident de la centrale de Fukushima, des prélèvements sont effectués à des distances variables de la centrale. On observe la première génération de papillons nés après l'accident.

Cette partie permet de mettre en évidence le lien entre l'augmentation brutale de radioactivité dans l'environnement, en particulier due au césium 137, et les variations de phénotypes des papillons bleus.

QUESTIONS

Radioactivité et variations phénotypiques

À partir du **document C** et des connaissances acquises :

- 2.1. Décrire l'évolution de l'activité du césium 137 en fonction de la distance à la centrale.
- 2.2. Montrer que les malformations constatées sont vraisemblablement des conséquences de l'accident de la centrale de Fukushima.

Pour vérifier le lien entre l'irradiation et l'apparition des malformations, des chercheurs ont soumis des larves de papillons bleus à des radiations similaires à celles rencontrées à Fukushima.

L'expérience est présentée dans le **document D**.

- 2.3. Repérer les différences de phénotypes entre les papillons issus de la population de larves irradiées et de la population témoin.
En reliant le phénotype au génotype, proposer une explication aux différences constatées.

Radioactivité et mutations génétiques

La formation des pattes, des antennes et des ailes des papillons dépend d'une protéine codée par un gène appelé *distal-less* (noté *dlx*). Des mutations génétiques sont observées sur le gène *dlx* dont une partie de la séquence est représentée dans le **document E**.

À partir du **document E** et des **documents de référence** :

- 2.4. Repérer la position d'une mutation dans la portion de gène présentée, puis identifier son type.
- 2.5. À partir des allèles sauvage et muté, écrire les séquences des ARN messagers obtenus par transcription des brins 2.
- 2.6. En déduire les séquences peptidiques résultant de la traduction de ces ARN messagers en démarrant au nucléotide 61 pour chaque séquence.
- 2.7. Comparer les séquences peptidiques obtenues.
- 2.8. En mettant en relation l'ensemble des réponses et des données précédentes, rédiger une synthèse sur les conséquences de la libération massive de césium radioactif ^{137}Cs lors de l'accident de Fukushima sur le développement de certains organes chez le papillon bleu.

DOCUMENTS

Document C : activité du césium 137 et taux de malformations

Document D : influence des radiations sur les phénotypes

Document E : séquence des nucléotides 61 à 80 du gène *dlx*

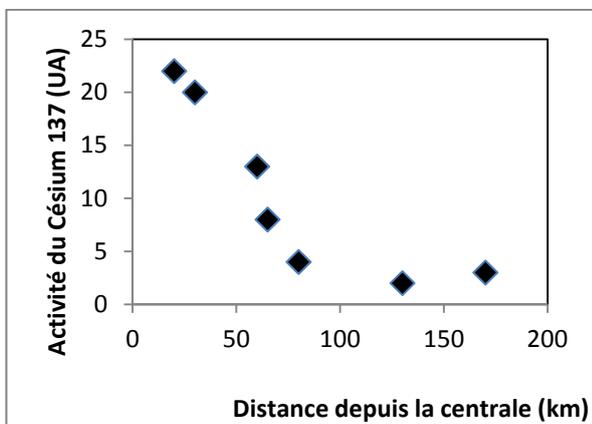
Documents de référence : les différents types de mutations et leurs conséquences ; tableau du code génétique

Document C : activité du césium 137 et taux de malformations

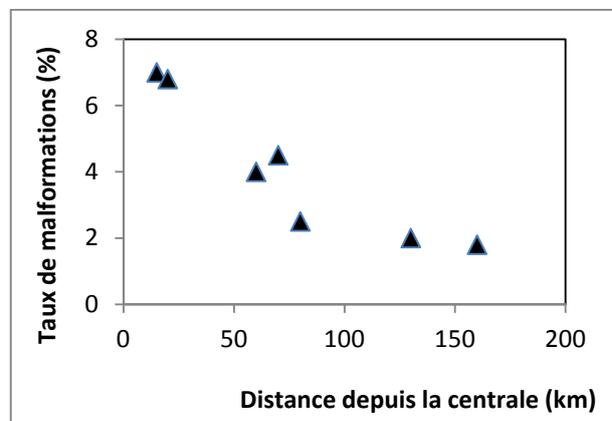
L'activité du césium 137 traduit l'importance de la radioactivité en un point donné. Elle est mesurée dans différentes localités (**document C1**).

Cent quarante quatre papillons issus de la première génération éclosent après l'accident de Fukushima sont récoltés dans différentes localités plus ou moins éloignées de la source de contamination. Le taux de papillons présentant des malformations dans ces différentes localités est déterminé (**document C2**).

C1.



C2.



Document D : influence des radiations sur les phénotypes

L'expérience porte sur un échantillon de cent larves issues de la reproduction de papillons bleus prélevés en zone non irradiée :

- la moitié de l'échantillon est conservée telle quelle pour servir de témoin,
- l'autre moitié est soumise à une dose de radiations de 55 mSv (milliSievert).

Les phénotypes des adultes issus de ces deux populations sont rassemblés dans le tableau suivant :

	Ailes antérieures		longueur des pattes (cm)	Antennes		
	Taille (cm)	Répartition des ocelles*		longueur (cm)	Forme	Motif coloré
Témoin	1,22 ± 0,06	Régulière	0,78 ± 0,04	0,90 ± 0,05	Droites	Alternance de bandes noires et blanches
Irradié	1,11 ± 0,16	Irrégulière	0,45 ± 0,13	0,50 ± 0,11	Tordues	Pas de bandes blanches

Recensement des caractères phénotypiques des deux populations de papillons

*Ocelles : taches brunes à la surface des ailes des papillons.

Document E : séquence des nucléotides 61 à 80 d'une portion du gène *dlx*

Allèle sauvage	5' P - ⁶¹ GGCTTCTATAGCGGCCAGAG - 3' OH	← brin 1
	3' OH - CCGAAGATATCGCCGGTCTC - 5' P	← brin 2
Allèle muté	5' P - ⁶¹ GGCGTCTATAGCGGCCAGAG - 3' OH	← brin 1
	3' OH - CCGCAGATATCGCCGGTCTC - 5' P	← brin 2

Brin 1 : brin non transcrit

Brin 2 : brin transcrit

Documents de référence :

Les différents types de mutations et leurs conséquences

Mutation nucléotidique	Conséquence dans la séquence nucléotidique
Insertion	Ajout d'un nucléotide
Délétion	Suppression d'un nucléotide
Substitution	Remplacement d'un nucléotide

Tableau du code génétique

		DEUXIEME NUCLEOTIDE								
		U	C	A	G					
PREMIER 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 2015

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Lundi 22 juin 2015

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 la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte **10** pages.

DIAGNOSTIC ET SUIVI D'UN SYNDROME MÉNINGÉ

Un enfant de 18 mois est hospitalisé en urgence en raison d'une forte fièvre, de vomissements et de troubles du comportement.

Une infection des méninges d'origine bactérienne est évoquée. Les méninges sont des couches protectrices du système nerveux central, dont une contient le liquide céphalo-rachidien (LCR).

Une antibiothérapie d'urgence à large spectre est mise en place.

Pour établir le diagnostic avec certitude et vérifier l'efficacité du traitement, plusieurs examens biologiques complémentaires sont réalisés :

- un dosage sérique de la protéine C-réactive (CRP) ;
- une identification par PCR de la souche responsable de la méningite ;
- un antibiogramme.

1. DOSAGE DE LA PROTÉINE C-RÉACTIVE PAR TECHNIQUE ELISA

Pour orienter le diagnostic, le dosage d'une protéine sérique, la CRP (protéine C-réactive, effecteur du système immunitaire), est immédiatement réalisé.

La concentration sérique en protéine C-réactive de l'enfant de 18 mois hospitalisé en urgence est de 110 mg.L^{-1} .

Q1. Utiliser le **document 1** pour montrer que la concentration sérique en CRP chez l'enfant hospitalisé est conforme au diagnostic médical.

Le dosage de la protéine C-réactive est réalisé par méthode immunoenzymatique. Les étapes de la méthode sont présentées dans le **document 2**.

Q2. Représenter par un schéma les cupules à l'issue de l'étape 3 pour les deux sérums A et B en respectant la légende.

Q3. Analyser le **document 2** et déduire le sens de variation de l'absorbance dans la cupule en fonction de la concentration sérique en CRP.
Argumenter la réponse.

L'évolution de la concentration sérique en CRP à la suite d'une infection bactérienne, traitée ou non par un antibiotique efficace, est présentée dans le **document 3**.

Q4. Analyser le **document 3** afin de montrer l'intérêt du dosage de la CRP pour le diagnostic d'une infection bactérienne et le suivi de l'efficacité du traitement.

2. IDENTIFICATION PAR PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*) DE LA SOUCHE BACTERIENNE IMPLIQUEE DANS L'INFECTION

L'espèce *Streptococcus pneumoniae*, fréquemment responsable des infections méningées, peut être identifiée dans le liquide céphalo-rachidien par différentes techniques comme la culture sur milieux, les tests d'agglutination ou la recherche d'antigènes solubles.

Les laboratoires utilisent également des outils de biologie moléculaire qui présentent de nombreux avantages tels que la rapidité et la spécificité. Ils peuvent être pratiqués même lorsqu'une antibiothérapie a déjà été mise en place.

La technique la plus couramment utilisée est la PCR (*Polymerase chain reaction*).

2.1. Choix des amorces de la PCR

La spécificité de cette technique d'amplification d'ADN est liée au choix des amorces. Dans le cadre d'une identification de souches de *Streptococcus pneumoniae* pathogènes, les amorces utilisées s'hybrident par complémentarité des bases azotées sur une séquence d'ADN codant la pneumolysine, enzyme spécifique de *Streptococcus pneumoniae*.

Les éléments d'analyse de cette PCR sont donnés dans le **document 4**.

Q5. A l'aide du **document 4**, calculer la taille, en nombre de paires de bases, du fragment d'ADN amplifié.

La température d'hybridation d'une amorce dépend de sa température de fusion (T_m).

La température de fusion d'un fragment d'ADN double brin correspond à la température pour laquelle 50 % de ce fragment est dissocié sous forme d'ADN simple brin.

Q6. Calculer les températures T_m des amorces P1 et P2 utilisées pour cette PCR.

Q7. Montrer que la T_m de chacune des deux amorces est compatible avec les conditions de réalisation de la PCR indiquées dans le **document 4**.

2.2. Identification de la souche responsable de l'infection chez l'enfant

Le **document 5** présente les résultats de la migration électrophorétique des échantillons d'ADN après PCR. Des témoins de PCR, sont réalisés parallèlement aux essais, afin de pouvoir interpréter les résultats obtenus à partir du LCR de l'enfant hospitalisé.

Q8. Montrer que les résultats obtenus pour les témoins permettent de valider la manipulation.

Q9. Déterminer la taille approximative, exprimée en paires de base, du fragment d'ADN amplifié dans les puits 2 et 4.

Q10. Conclure à partir des résultats obtenus.

3. ETABLISSEMENT DE LA STRATEGIE THERAPEUTIQUE

La bactérie isolée du liquide céphalo-rachidien est un coque à Gram positif, exigeant en facteurs de croissance. Afin de choisir l'antibiotique le mieux adapté au traitement de la méningite, un antibiogramme est réalisé. Auparavant, les conditions de culture de la bactérie sont étudiées afin d'optimiser les conditions de réalisation de l'antibiogramme.

Q11. A partir de l'analyse du **document 6**, choisir les paramètres physico-chimiques favorables à la croissance de la bactérie (pH, température).

Le **document 7** présente la composition de trois milieux de culture disponibles dans le laboratoire.

Q12. Comparer la composition des milieux et argumenter le choix du milieu le plus adapté à la croissance de cette bactérie.

Les résultats de l'antibiogramme sont consignés dans le **document 8**.

Q13. A partir du **document 8** et en prenant comme exemple la céfotaxime, reproduire le schéma de l'abaque et positionner la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) de cet antibiotique.

Q14. Identifier le comportement de la bactérie vis-à-vis des trois antibiotiques testés.

SYNTHESE

Q15. Sachant que l'enfant de 18 mois hospitalisé en urgence a été traité dès son admission par l'amoxicilline, et à partir des résultats obtenus lors de la lecture de l'antibiogramme, proposer l'évolution vraisemblable de la concentration sérique en CRP.

DOCUMENT 1 - Valeurs des concentrations sériques en CRP

	Conditions physiologiques	Cas d'une infection virale	Cas d'une infection bactérienne
Concentration massique en CRP sérique (mg.L ⁻¹)	< 10 mg.L ⁻¹	[10 ; 50] mg.L ⁻¹	> 60 mg.L ⁻¹

DOCUMENT 2 - Dosage immuno-enzymatique de la CRP

2a - Description des étapes de la méthode

Dans cette méthode, la phosphorylcholine est immobilisée au fond d'une cupule et sert d'agent de capture de la CRP. Cette cupule contient également des anticorps anti-CRP en solution, marqués à la peroxydase.

Etape 1 : Un volume de sérum à tester est déposé dans la cupule. La CRP présente dans l'échantillon, la phosphorylcholine et l'anticorps anti-CRP marqué à la peroxydase, forment alors un complexe insoluble au cours d'une première incubation.

Etape 2 : Un lavage de la cupule est ensuite réalisé.

Etape 3 : Lors d'une seconde incubation, le substrat chromogène de l'enzyme et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sont ajoutés pour réaliser la révélation. L'enzyme liée à l'anticorps anti-CRP catalyse la réaction suivante :



Etape 4 : L'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 670 nm.

2b - Représentation schématique des étapes 1 et 2

Légende :

 Anticorps anti-CRP marqué à la peroxydase

 phosphorylcholine

 CRP

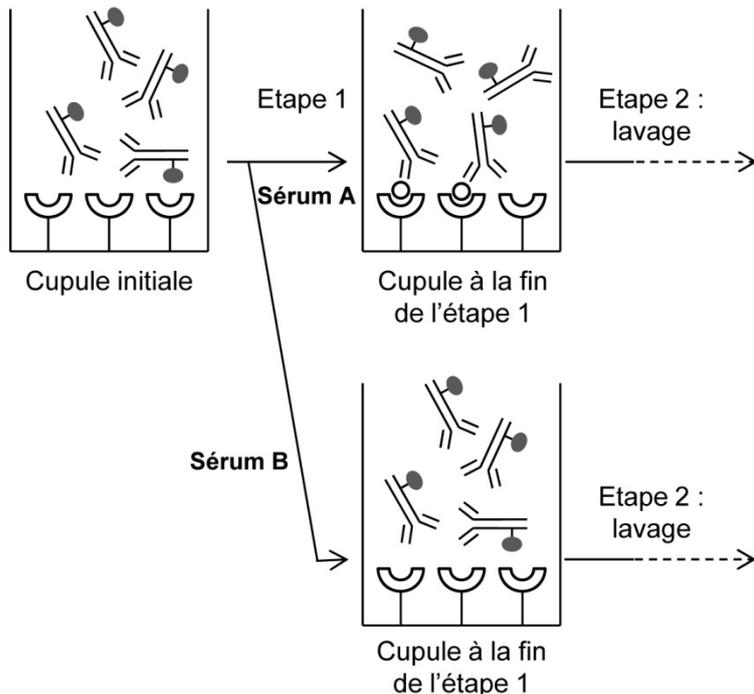
 H₂O₂

 Substrat chromogène

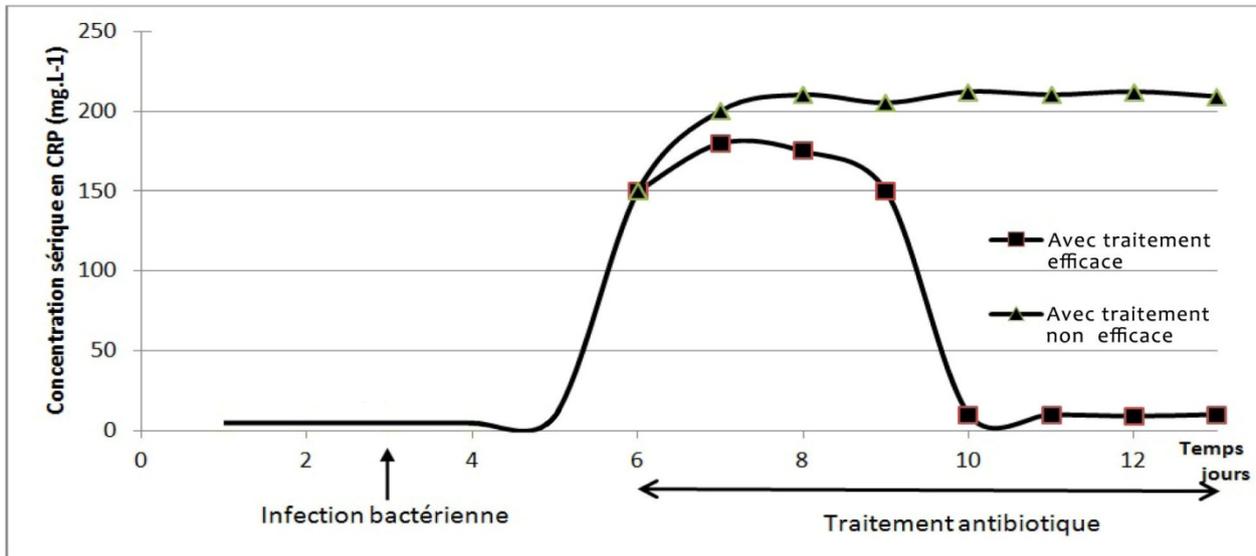
 Produit coloré

Sérum A : le sérum ajouté contient de la CRP

Sérum B : le sérum ajouté ne contient pas de CRP



DOCUMENT 3 - Suivi de la concentration sérique en CRP au cours du temps lors d'une infection bactérienne



DOCUMENT 4 – Amplification du gène codant la pneumolysine par PCR

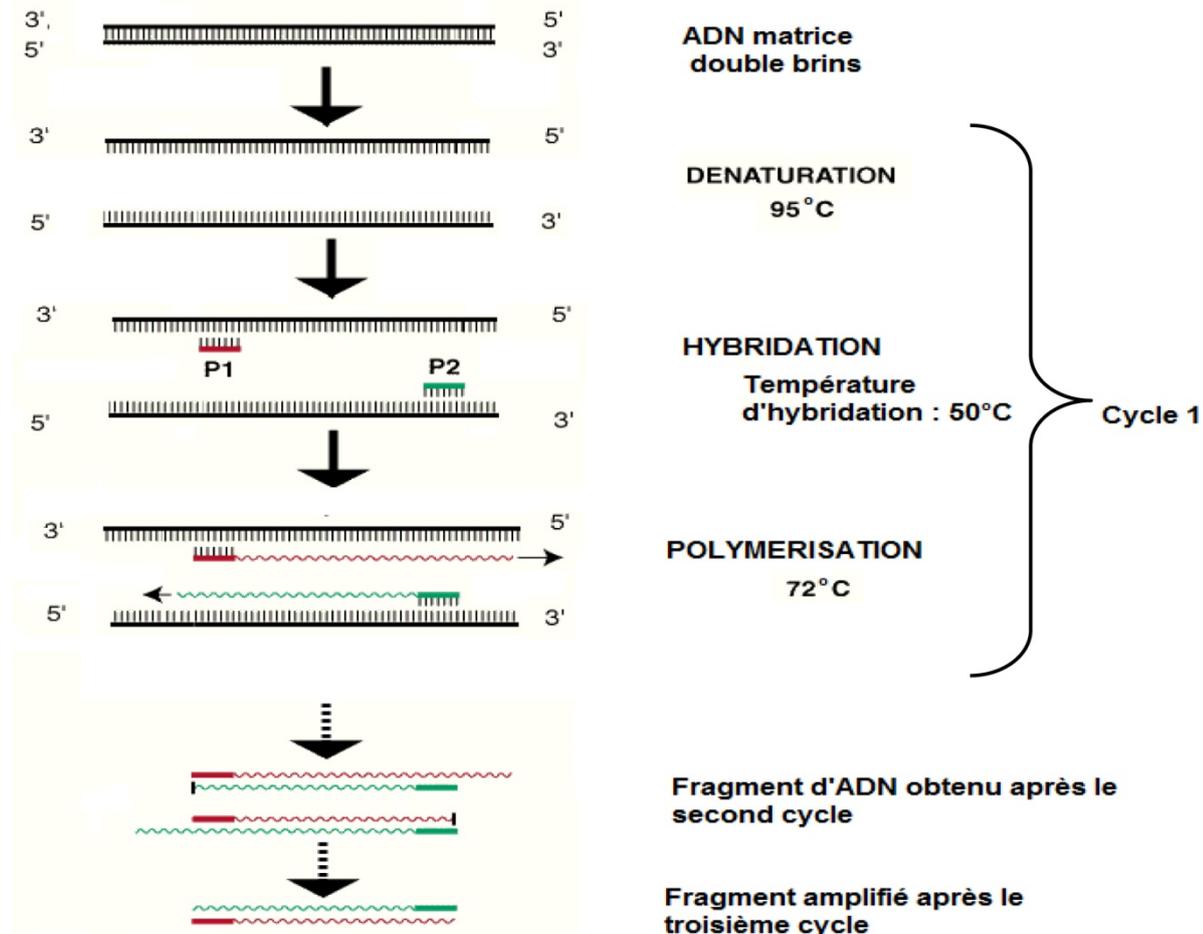
Les amorces P1 et P2 permettent d'amplifier un fragment d'ADN compris entre le nucléotide en position 79 et le nucléotide en position 1410 du gène codant la pneumolysine.

4a – Séquences des amorces utilisées dans le cadre de la PCR

Séquence de l'amorce P1 : 5' TAA GGC TGA AGA AGA GAT C 3'

Séquence de l'amorce P2 : 5' AGG CTT GGG ACA GAC AAT T 3'

4b - Conditions de la réalisation de la PCR



- La **température d'hybridation** T_H de l'ADN cible doit être légèrement inférieure aux T_m des amorces ($\Delta T_m < 5 \text{ °C}$).
- Les **deux amorces** doivent avoir une T_m proche, l'écart entre les deux températures de fusion doit être inférieur ou égal à 2 °C.

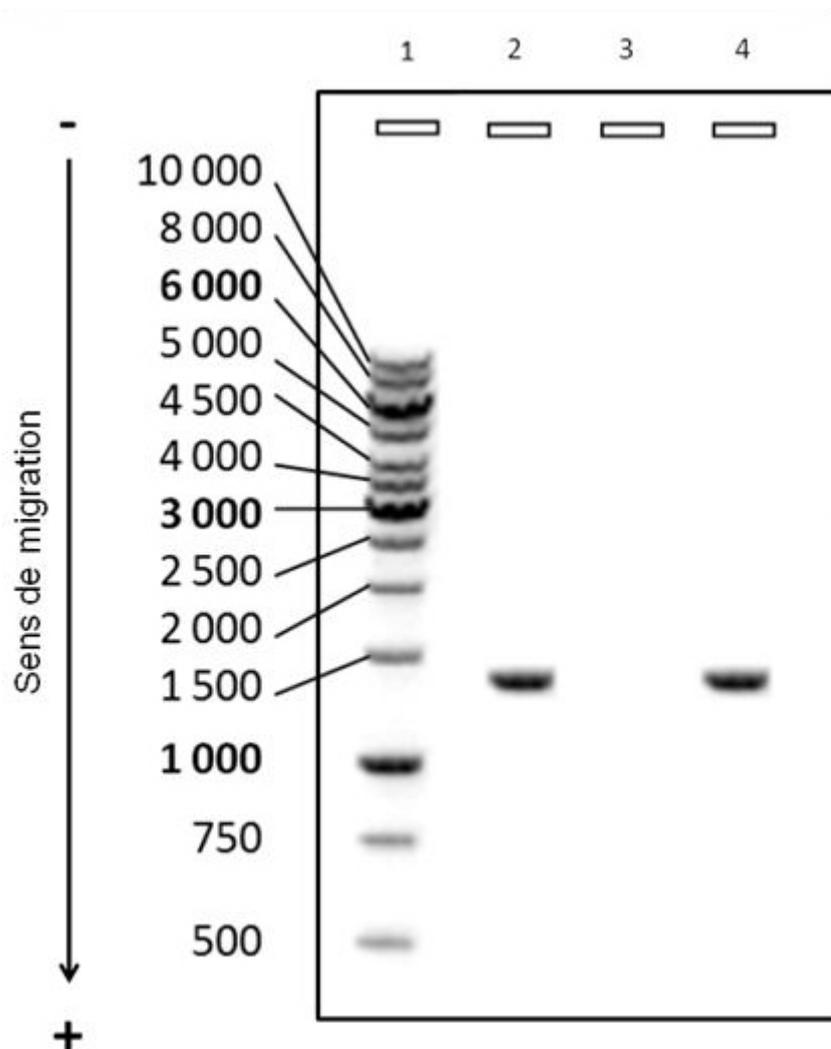
4c - Calcul de la température de fusion T_m d'une amorce en degrés Celsius

Formule de Wallace : $T_m = 2 \times (n_A + n_T) + 4 \times (n_C + n_G)$

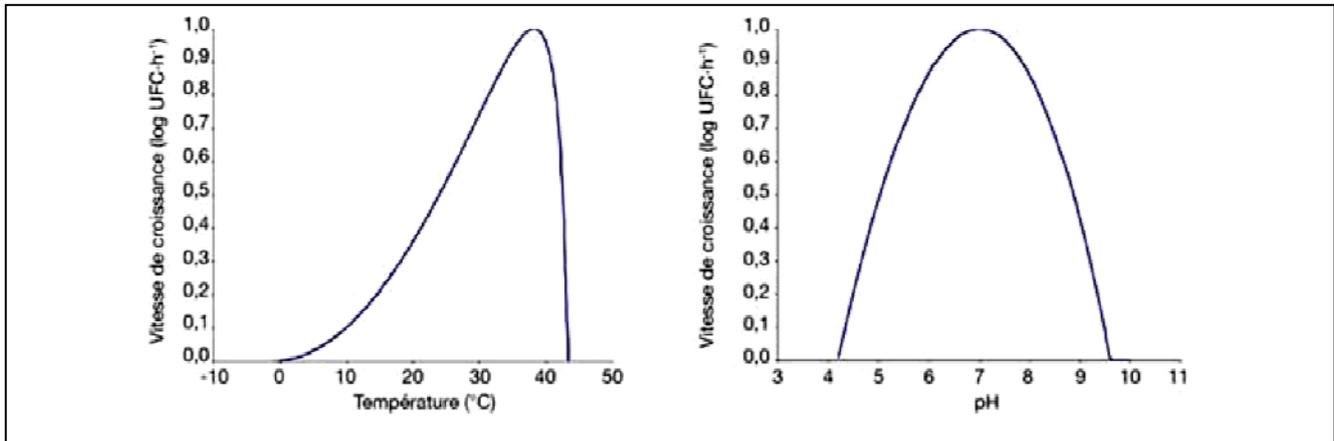
n_A = nombre de nucléotides « A » dans l'amorce ; n_T = nombre de nucléotides « T » dans l'amorce ;
 n_C = nombre de nucléotides « C » dans l'amorce ; n_G = nombre de nucléotides « G » dans l'amorce.

**DOCUMENT 5 - Electrophorégramme des fragments d'ADN
après amplification par PCR avec les amorces P1 et P2**

- **Puits 1** - Dépôt d'un marqueur de taille moléculaire (taille en paire de bases).
- **Puits 2** - Dépôt d'un témoin positif de PCR : mélange réactionnel **et** ADN d'une souche de référence de *Streptococcus pneumoniae*.
- **Puits 3** - Dépôt d'un témoin négatif de PCR : mélange réactionnel **sans** ADN.
- **Puits 4** - Dépôt « patient » : mélange réactionnel **et** prélèvement de liquide céphalo-rachidien du patient.



DOCUMENT 6 - Influence des paramètres physico-chimiques sur la croissance de la souche isolée du LCR



DOCUMENT 7 - Composition des milieux de culture

	Milieu A	Milieu B	Milieu C
Peptones (g.L ⁻¹)	17,5	20,0	13,0
Infusion de viande de bœuf (g.L ⁻¹)	2,0	-	2,0
Glucose (g.L ⁻¹)	15,0	-	15,0
Chlorure de sodium (g.L ⁻¹)	-	5	-
Sang de mouton (%(v/v))	5	-	5
Agar (g.L ⁻¹)	10,0	10,0	10,0
pH	7,3	7,2	5,7

DOCUMENT 8 - Extrait du tableau de lecture de l'antibiogramme

Antibiotiques	Diamètres de la zone d'inhibition mesurés (mm)	Abaque de lecture : Diamètre (mm) Concentration en antibiotique (mg.L ⁻¹)
Amoxicilline	5	
Céfotaxime	29	
Erythromycine	20	

Les valeurs indiquées sur les abaques de lecture sont les valeurs critiques de diamètre de zone d'inhibition (mm) et de concentration en antibiotiques sériques (mg.L⁻¹).

Légende : comportement de la souche vis-à-vis de l'antibiotique testé

sensible	intermédiaire	résistante
----------	---------------	------------