

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2015

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 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

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 4

Partie 2 : pages 5 à 6

Les 2 parties sont indépendantes.

L'évaluation tiendra compte de la qualité de l'expression et de la communication

PARTIE 1 : L'ALBINISME, UN EXEMPLE DE RELATION ENTRE GÉNOTYPE ET PHÉNOTYPE (8 points)

L'albinisme est une anomalie génétique qui touche environ une personne sur 20 000 dans le monde. Elle est caractérisée par un dysfonctionnement dans la synthèse du pigment nommé mélanine.

L'objet de cette étude est de relier l'anomalie génétique au phénotype albinos.

QUESTIONS

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

- 1.1 Pour un sujet atteint d'albinisme, présenter les trois niveaux d'observation du phénotype : macroscopique, cellulaire et moléculaire.
- 1.2 Donner une projection de Fischer de la tyrosine.
- 1.3 Démontrer que l'allèle muté responsable de la maladie est récessif.
- 1.4 Donner les arguments permettant de penser que le gène responsable de la maladie est situé sur un chromosome non sexuel (autosomique).
- 1.5 Écrire les génotypes des individus I-1 et I-2 en utilisant la notation suivante : soit S l'allèle non muté et soit m l'allèle muté à l'origine de la maladie. Puis concevoir un tableau de croisement permettant d'établir la probabilité pour le couple I.1 / I.2 d'avoir un enfant atteint d'albinisme.

L'étude des patients souffrant d'albinisme a permis de lier les symptômes avec l'altération de l'activité de la tyrosinase. Le gène codant cette enzyme a été identifié et séquencé. La recherche de mutations dans le gène codant la tyrosinase est effectuée par comparaison des séquences de l'allèle de référence et de l'allèle présent chez les personnes atteintes (**document C**).

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

- 1.6 Décrire les différences constatées entre les séquences nucléotidiques et conclure sur le type de mutation.
- 1.7 Nommer dans l'ordre chronologique les deux étapes permettant la synthèse d'une protéine à partir d'un gène et localiser ces étapes dans une cellule eucaryote.
- 1.8 Pour chacune des séquences de l'allèle du gène de la tyrosinase, établir la séquence de l'ARN messager et en déduire la séquence d'acides aminés correspondante.
- 1.9 À l'aide de l'ensemble des réponses et des données précédentes, rédiger une synthèse expliquant en quoi le phénotype d'un individu albinos résulte de l'expression de son génotype.

DOCUMENTS

Document A : l'albinisme oculo-cutané

Document B : arbre généalogique d'une famille touchée par l'albinisme

Document C : deux allèles du gène codant pour la tyrosinase

Documents de référence : les différents types de mutation et tableau du code génétique

Document A : l'albinisme oculocutané

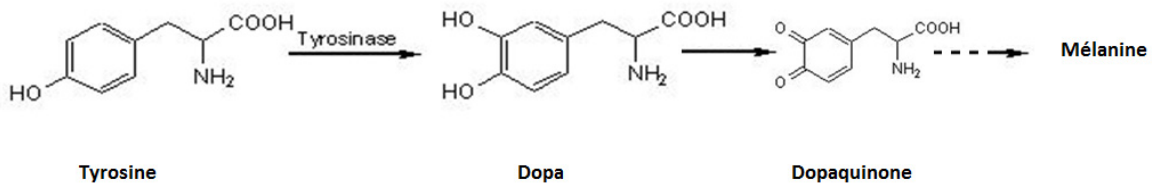
L'albinisme oculocutané se traduit par un déficit général de la pigmentation : les individus malades ont une peau d'un blanc cireux, leurs cheveux, ainsi que les poils, les sourcils et les cils sont blancs ; l'iris est transparent. À cela, s'ajoutent des troubles de la vision plus ou moins sévères.

Ces signes traduisent l'absence de mélanine, pigment qui donne sa couleur à la peau. La mélanine est synthétisée dans des cellules spécialisées, les mélanocytes, puis est transportée dans les kératinocytes. Mélanocytes et kératinocytes apparaissent, chez les individus atteints d'albinisme, non pigmentés.

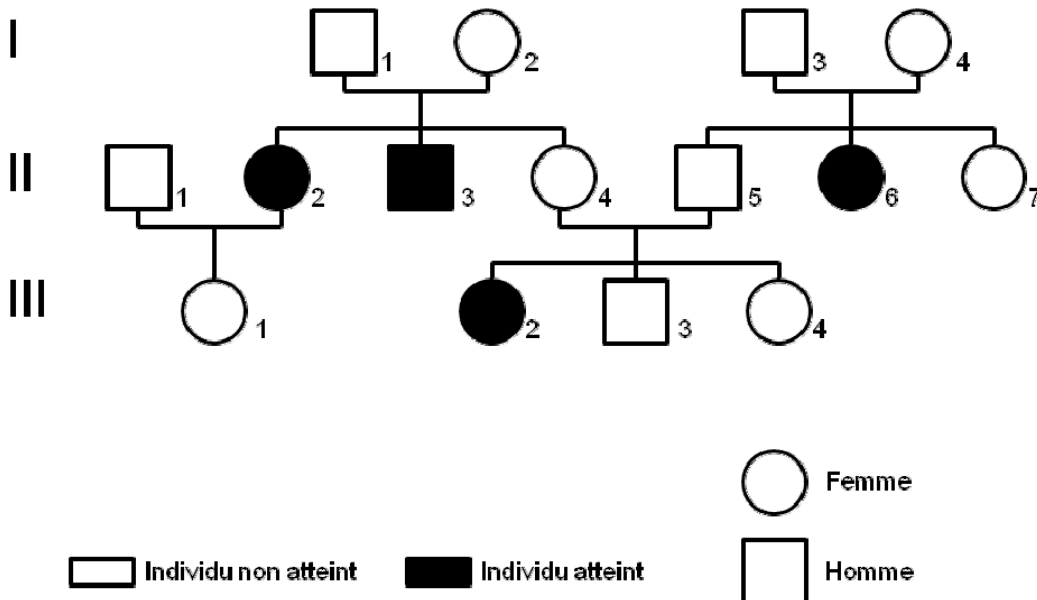
Cette synthèse se fait en plusieurs étapes, à partir d'un acide aminé, la tyrosine. La tyrosinase est une enzyme-clé de cette fabrication. C'est une protéine qui comporte 530 résidus d'acides aminés et qui catalyse la transformation de la tyrosine (acide aminé) en DOPA.

Chez les individus albinos, cette tyrosinase est déficiente et ne catalyse pas la transformation de la tyrosine en DOPA.

Voie de synthèse simplifiée de la mélanine



Document B : arbre généalogique d'une famille touchée par l'albinisme



Document C : deux allèles du gène codant la tyrosinase

Séquences partielles des brins d'ADN transcrits :

- l'allèle de la tyrosinase active :
 ...CTG GAG AAA CAG ACC TAC GTA...
 ↑
 520^{ème} nucléotide

- l'allèle de la tyrosinase inactive :
 ...CTG GAG AAA CAG ATC TAC GTA ...

Documents de référence :

Les différents types de mutations et leurs conséquences

Type de mutation	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	TROISIEME NUCLEOTIDE	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

PARTIE 2 - CONSÉQUENCES DE LA PRÉSENCE D'ŒSTROGÈNES DANS L'EAU (12 POINTS)

Le sujet propose d'étudier deux aspects de la présence d'œstrogènes dans l'environnement :

- l'impact sur le fonctionnement des testicules humains et la fertilité masculine ;
- l'élimination dans le cadre de l'épuration microbiologique des eaux usées.

QUESTIONS

2.

Certaines pilules contraceptives contiennent des œstrogènes de synthèse. Une partie de ces œstrogènes se retrouve dans les urines.

- 2.1. En utilisant le **document D**, proposer une hypothèse pouvant expliquer la présence de ces œstrogènes de synthèse dans l'organisme masculin.
- 2.2. À l'aide du **document E**, donner le nom de la fonction organique oxygénée de l'œstradiol et préciser si cette fonction possède un caractère polaire.
- 2.3. D'après la structure des œstrogènes présentés dans le **document E**, justifier leur caractère peu hydrophile.
- 2.4. À l'aide du **document F**, concevoir un schéma présentant le contrôle de l'activité testiculaire par le complexe hypothalamo-hypophysaire en précisant le nom et l'action des différentes hormones produites chez l'homme. Ajouter sur ce schéma l'action des œstrogènes de synthèse.
- 2.5. À l'aide de ce schéma et des connaissances acquises au cours de la formation, expliquer les conséquences possibles de la présence d'œstrogènes dans l'environnement sur la fertilité masculine.

Une des pistes pour améliorer la dégradation des œstrogènes de synthèse retrouvés dans les eaux usées est la recherche d'enzymes impliquées dans leur transformation.

La laccase est une enzyme produite par des champignons tels que *Trametes versicolor*. Cette enzyme catalyse l'oxydation des œstrogènes.

- 2.6. Écrire, à partir des données du **document G**, les demi-équations d'oxydoréduction des couples mis en jeu dans la dégradation des œstrogènes.
- 2.7. Écrire l'équation de la réaction d'oxydation des œstrogènes.
- 2.8. Donner la condition que doit respecter le potentiel standard d'oxydoréduction du couple (œstrogène oxydé / œstrogène réduit) pour que la réaction d'oxydation des œstrogènes soit favorisée.
- 2.9. Résumer l'intérêt d'utiliser *Trametes versicolor* dans le cadre de l'épuration microbiologique des eaux usées.

DOCUMENTS

Document D : biodégradabilité des produits organiques de synthèse

Document E : structure de deux œstrogènes

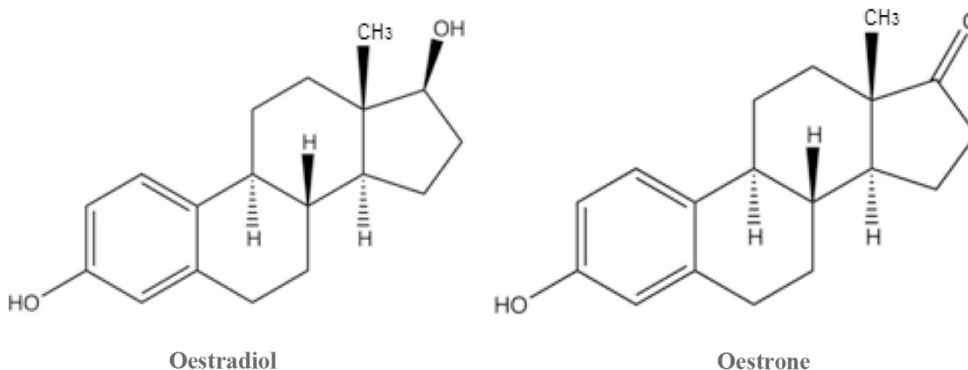
Document F : tableau d'action des hormones

Document G : couples oxydant-réducteur

Document D : biodégradabilité des produits organiques de synthèse

De très nombreuses substances d'origine naturelle sont biodégradables. Cette propriété n'est pas aussi fréquente pour les molécules organiques fabriquées par synthèse chimique comme les pesticides et les médicaments. En effet, elles sont peu ou pas biodégradables. Elles peuvent alors passer à travers les stations d'épuration sans subir de transformations importantes, aboutir finalement dans l'environnement et être consommées par les êtres vivants.

Document E : structure de deux œstrogènes



Document F : tableau d'action des hormones

Hormones	Origine	Organe cible	Action
FSH	Hypophyse	Testicules	Stimulation (+)
GnRH	Hypothalamus	Hypophyse	Stimulation (+)
LH	Hypophyse	Testicules	Stimulation (+)
Œstrogènes	Synthétique	Hypothalamus, hypophyse	Inhibition (-)

Document G : couples oxydant-réducteur

Lors de l'oxydation des œstrogènes, deux couples oxydant-réducteur sont mis en jeu :

- le couple œstrogène oxydé / œstrogène réduit, noté A / AH₂ ;
- le couple O₂ / H₂O (E°' = + 0,82 V à 37°C et à pH = 7).

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2015

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 la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte **8** pages.

REUTILISATION DES EAUX USEES EPUREES

(Extrait d'un rapport de l'observatoire régional de la santé Ile-de-France 2004)

La raréfaction des ressources en eau et la dégradation de leur qualité est un défi majeur pour le XXI^{ème} siècle.

Afin de préserver la qualité des masses d'eau et de diminuer les prélèvements dans le milieu naturel, il convient de chercher des approvisionnements alternatifs. La réutilisation des eaux usées épurées peut constituer l'un de ces moyens d'approvisionnement. Cependant, ces eaux usées épurées restent chargées en contaminants divers, ce qui pose le problème des risques sanitaires.

Des traitements supplémentaires permettent de réduire les risques liés aux microorganismes pathogènes.

Afin de déterminer la méthode optimale de traitement, une équipe d'ingénieurs se propose d'étudier trois méthodes permettant d'éliminer ou d'inactiver ces microorganismes :

- un traitement par filtration sur membrane ;
- un traitement thermique ;
- un traitement biologique.

Le traitement choisi doit être économiquement rentable et ne pas compromettre l'utilisation ultérieure des eaux usées.

1. TRAITEMENT PAR FILTRATION SUR MEMBRANE

La filtration sur membrane a pour objectif d'éliminer toutes les bactéries présentes dans les eaux usées épurées. Le **document 1** présente le schéma d'une filtration sur membrane.

Q1. Expliquer le principe de la filtration sur membrane en donnant le critère sur lequel repose la séparation des constituants d'un mélange.

Q2. A l'aide du **document 2**, identifier, en argumentant la réponse, la technique membranaire adaptée à l'élimination des bactéries des eaux usées épurées.

Donnée : taille minimale d'une bactérie = 0,5 µm.

Après un essai au laboratoire, les techniciens constatent un colmatage important du filtre, phénomène illustré dans le **document 3**.

Q3. Indiquer la conséquence du colmatage sur la filtration des eaux usées épurées.

Le colmatage peut être limité en éliminant préalablement les particules de très grosse taille.

Q4. Choisir dans le **document 2** la technique conventionnelle, préalable à la filtration, qui permet de limiter le colmatage. Argumenter la réponse.

2. TRAITEMENT THERMIQUE

Le traitement thermique, caractérisé par une durée et une température de traitement déterminées (appelé couple temps / température), réduit considérablement le niveau de contamination des eaux usées épurées. Le barème temps / température choisi dépend de la concentration initiale en bactéries pathogènes. *Staphylococcus aureus* est utilisé comme microorganismes de référence.

Un dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les eaux usées épurées est réalisé sur milieu solide. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Q5. Etablir l'équation aux valeurs numériques et montrer que les eaux usées épurées contiennent $1,0 \cdot 10^4$ UFC de *Staphylococcus aureus* par millilitre.

Le **document 5** montre une courbe de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* à 70 °C.

Q6. En utilisant la charge initiale déterminée à la question **Q5**, évaluer graphiquement la durée minimale de traitement nécessaire pour éliminer la contamination due à *Staphylococcus aureus* et expliquer la démarche.

Un traitement thermique de 5 minutes à 70 °C est proposé pour traiter les eaux usées épurées. Au-delà d'une de ces valeurs, le traitement thermique n'est pas suffisamment rentable.

Q7. Expliquer si la durée du traitement thermique calculée à la question **Q6** est compatible avec les contraintes économiques.

3. TRAITEMENT BIOLOGIQUE

Les eaux usées épurées sontensemencées avec des microorganismes épurateurs qui :

- acidifient le milieu en produisant de l'acide lactique ;
- libèrent des bactériocines qui peuvent inhiber la microflore pathogène.

L'obtention d'une acidité titrable supérieure à 1,2 % et les bactériocines permettent une action efficace sur l'ensemble des micro-organismes à éliminer.

3.1. Contrôle de l'identité des microorganismes épurateurs

L'identité de deux microorganismes épurateurs est contrôlée par des examens microscopiques et par un isolement sur des milieux sélectifs. Le **document 6** présente les micrographies A et B de ces deux microorganismes épurateurs ainsi que la composition des deux milieux P et M sur lesquels chaque microorganisme sera isolé.

Q8. A l'aide du **document 6**, identifier et argumenter les types de microscopes utilisés pour obtenir chacune des micrographies A et B.

Q9. Indiquer sur quel milieu de culture P ou M sera isolé chacun des microorganismes épurateurs. Argumenter la réponse.

Q10. Dégager le caractère cultural commun aux deux microorganismes épurateurs.

3.2. Comparaison de l'activité antimicrobienne des *Lactobacillus*

L'activité antimicrobienne de trois souches de *Lactobacillus* est testée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus figurent dans le **document 7**.

Q11. Après analyse du **document 7**, choisir la souche de *Lactobacillus* à utiliser préférentiellement pour traiter les eaux usées épurées par voie biologique. Argumenter ce choix.

3.3. Contrôle de l'efficacité de traitement des eaux usées par les deux microorganismes épurateurs

Les deux microorganismes épurateurs sont incubés ensemble pendant environ 48 h dans un fermenteur contenant un volume connu d'eaux usées épurées. L'efficacité du traitement est alors contrôlée par des analyses dont les résultats figurent dans le **document 8**.

Q12. Décrire l'évolution des paramètres physico-chimiques au cours du traitement biologique.

Q13. Décrire l'évolution des paramètres microbiologiques au cours du traitement biologique.

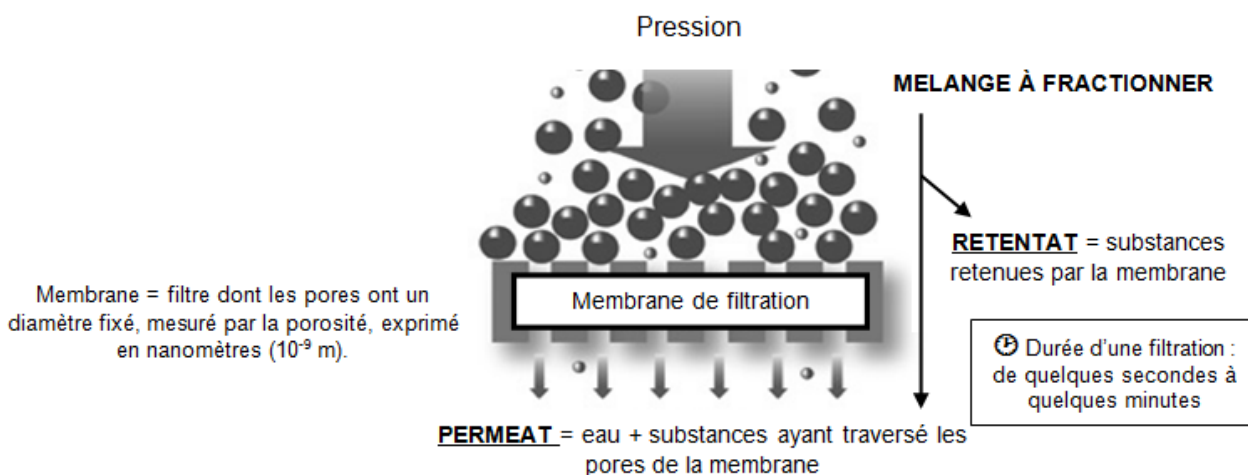
Q14. Proposer une explication à l'évolution des paramètres microbiologiques et physico-chimiques au cours du traitement biologique.

Q15. Conclure quant à la réussite ou à l'échec du traitement biologique des eaux usées épurées.

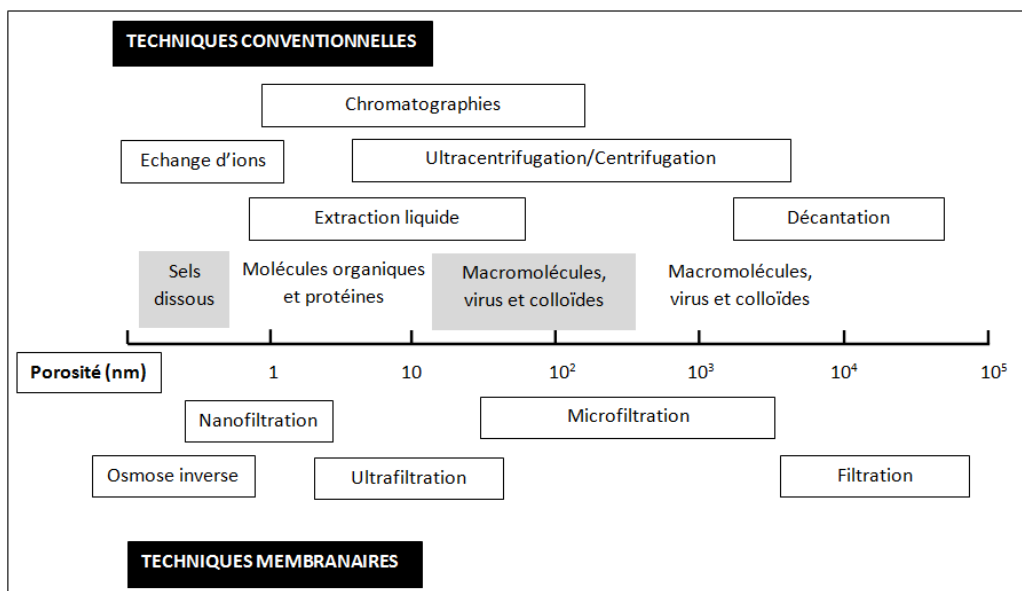
SYNTHESE

Q16. Récapituler dans un tableau les avantages et inconvénients des trois méthodes proposées pour le traitement des eaux usées épurées. En déduire le choix retenu dans l'objectif d'une réutilisation des eaux usées épurées.

DOCUMENT 1 - Filtration sur membrane

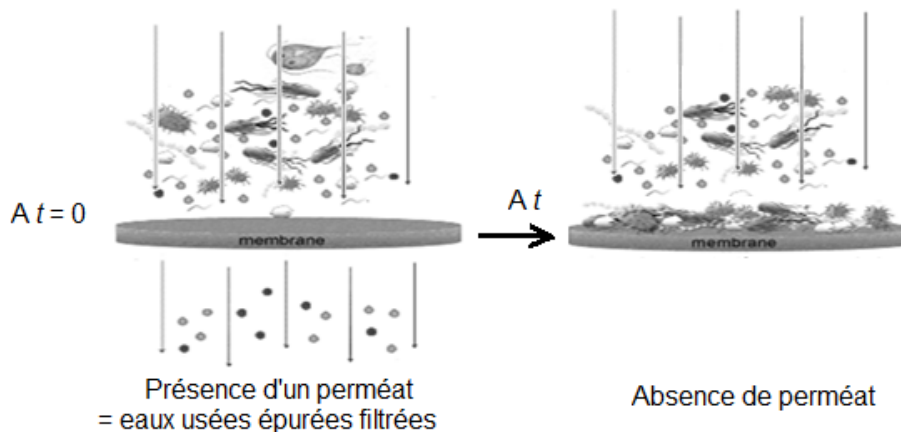


DOCUMENT 2 - Techniques membranaires et conventionnelles de séparation



DOCUMENT 3 - Colmatage des filtres

Eaux usées épurées = mélange à fractionner



DOCUMENT 4 - Dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les eaux usées épurées

- **Milieu utilisé** : gélose Baird-Parker
- **Technique de dénombrement** : en surface (volume d'inoculum : 0,1 mL)
- **Incubation** : 48 h à 37 °C

Dilution	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²
Nombre de colonies	Non comptable	99	11

D'après la norme NF EN ISO 7218 :

$$\text{Equation aux grandeurs : } N = \frac{\Sigma c}{V \cdot 1,1 \cdot d}$$

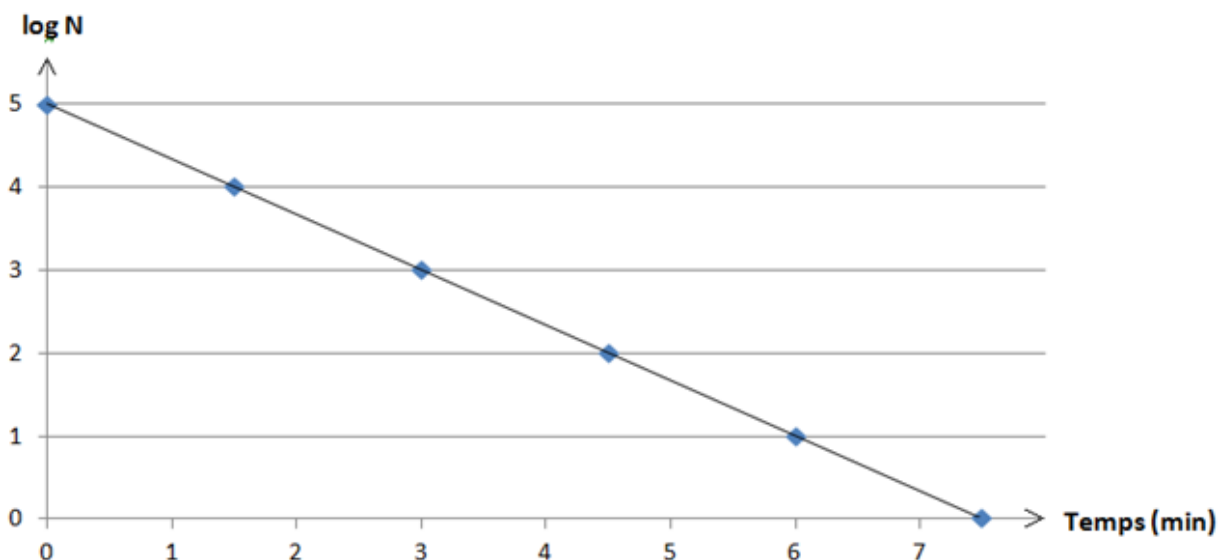
- N : nombre d'UFC (Unités Formant Colonies) par mL de produit initial
- Σc : somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au minimum dix colonies.
- V : volume de l'inoculum déposé dans chaque boîte (en mL)
- d : dilution correspondant à la première boîte retenue (dilution la plus faible).

Expression du résultat de mesure :

Le résultat est arrondi à deux chiffres significatifs et exprimé par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

DOCUMENT 5 - Courbe de destruction thermique de *Staphylococcus aureus* à 70 °C

Le calcul du logarithme décimal de N permet de tracer une droite d'équation : $\log N = f(t)$



DOCUMENT 6 - Choix des microorganismes épurateurs pour le traitement biologique

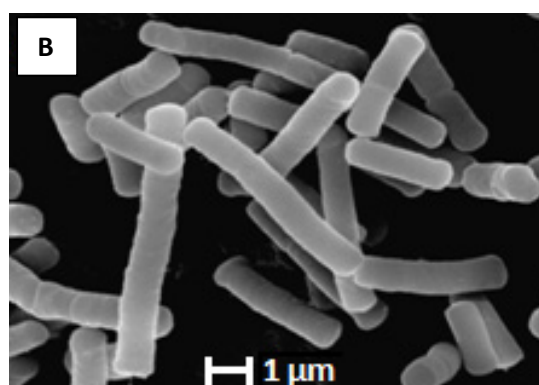
➤ **Liste de microscopes fréquemment utilisés pour l'observation de microorganismes :**

- Microscope électronique à transmission
- Microscope photonique à fond clair
- Microscope électronique à balayage
- Microscope photonique à fluorescence

➤ **Observation microscopique des microorganismes isolés**



Grossissement x 15 000

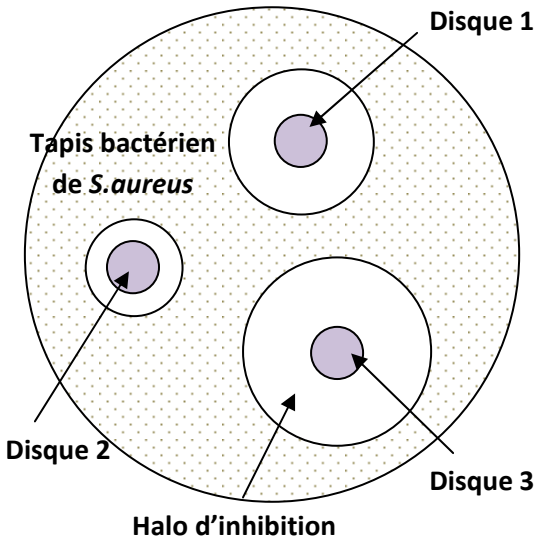


Grossissement x 15 000

➤ **Milieus de culture utilisés pour l'isolement des microorganismes**

Milieu	P	M
Nom	<i>Potato dextrose agar</i>	<i>Man Rogosa Sharpe</i>
Utilisation	Culture des mycètes (levures et moisissures)	Culture et dénombrement des bactéries du genre <i>Lactobacillus</i>
Caractéristiques	<p>Le pH final de 3,5 est obtenu par l'ajout de 10 % d'acide tartrique.</p> <p>Cette acidité inhibe la totalité des bactéries.</p>	<p>Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium inhibent la plupart des contaminants comme les streptocoques et les moisissures.</p> <p>Le pH final du milieu de 5,7 favorise la croissance de <i>Lactobacillus</i>.</p>

DOCUMENT 7 - Détermination de l'activité antimicrobienne de trois souches de *Lactobacillus*

Mode opératoire	Schéma de la boîte après incubation
<ul style="list-style-type: none"> • Ensemencer une gélose nutritive avec une suspension de <i>S.aureus</i> par écouvillonnage. • Imbiber trois disques de papier stériles avec différentes suspensions de <i>Lactobacillus</i> (LB) : <ul style="list-style-type: none"> - disque 1 : souche LB5 - disque 2 : souche LB10 - disque 3 : souche LB17 • Déposer à la pince chaque disque sur la gélose nutritive. Appuyer légèrement sur le disque pour le faire adhérer. • Retourner la boîte et incuber 24 h à 37 °C. • Mesurer les diamètres d'inhibition obtenus autour de chaque disque. 	

DOCUMENT 8 - Analyses des eaux usées épurées avant et après le traitement biologique

Analyses physico-chimiques			Analyses microbiologiques		
Paramètre	Eaux usées épurées avant traitement	Eaux usées épurées après traitement	Paramètre	Eaux usées épurées avant traitement (UFC.mL ⁻¹)	Eaux usées épurées après traitement (UFC.mL ⁻¹)
pH	6,72	3,87	<i>Lactobacillus</i>	3,0.10 ⁶	2,0.10 ⁷
			Levures	5,0.10 ³	7,0.10 ⁴
Acidité titrable	0,3 %	1,3 %	<i>Staphylococcus</i>	1,0.10 ⁴	0
			<i>Salmonella</i>	1,2.10 ¹	0

Donnée : 1 % d'acidité correspond à 1 g d'acide lactique pour 100 mL d'eaux usées épurées.