Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV®.

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour consulter tous nos sujets d'annales et corrigés du Bac STL, veuillez visiter :
bacstl.fr/annales-sujets-et-corriges

BAC STL • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Session 2021 • Code sujet : **21-TL3BME3** • Durée : **3 heures**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. **Aspects physiopathologiques et diagnostics de la pandémie de COVID-19** (14 questions) — **Page 3**
2. **Synthèse sur les tests de diagnostic de la COVID-19** (1 question) — **Page 9**
3. **Développement d'une lessive écologique contenant une protéase** (14 questions) — **Page 10**
4. **Modification génétique et réglementation des organismes obtenus** (1 question) — **Page 16**
5. **Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ)** (Synthèse & Q&A Examen) — **Page 17**

Sujet officiel (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2021/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2021 - 1-Sujet.pdf

1. Aspects physiopathologiques et diagnostics de la pandémie de COVID-19

Le sujet étudie la mobilisation des cellules immunitaires lors d'une infection par le SARS-CoV-2 et le diagnostic par RT-qPCR, de la rétrotranscription à l'interprétation des témoins. Il porte aussi sur le dosage de la LDH plasmatique comme indicateur de lésions d'organes.

Réponse immunitaire innée

Question Q1. Relever les arguments permettant de montrer que les monocytes sont mobilisés lors d'une infection COVID-19.

À J7, le graphique montre une concentration sanguine en monocytes presque nulle chez la patiente, alors que les cinq individus sains présentent des valeurs nettement plus élevées, d'environ 4 à 16 unités arbitraires. Cette baisse ne signifie pas que les monocytes ne participent pas à la réponse. Lors d'une infection, ils quittent le sang pour rejoindre le site infecté, où ils se différencient en macrophages tissulaires et ne sont alors plus détectés dans le sang.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La faible concentration sanguine en monocytes chez la patiente traduit leur recrutement vers les tissus infectés.

Réponse immunitaire adaptative

Question Q2. Montrer que les LT CD4+ et les LT CD8+ sont impliqués dans la réponse dirigée contre le SARS-CoV-2.

Cellules	Évolution chez la patiente	Référence saine
LT CD8+	Environ 3,5 à J7, puis près de 12 à J9	0 à 2 unités arbitraires
LT CD4+	Augmente jusqu'à environ 3 à J9	0 à 2 unités arbitraires

Les deux populations augmentent après l'infection et dépassent la référence saine, ce qui montre leur mobilisation dans la réponse dirigée contre le SARS-CoV-2.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les LT CD4+ et LT CD8+ sont mobilisés contre le SARS-CoV-2, leurs concentrations augmentant après l'infection.

Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Question Q3. Expliquer le mécanisme de la réaction immunitaire adaptative à médiation cellulaire et en présenter l'intérêt dans la lutte antivirale.

1. Les LT reconnaissent spécifiquement des antigènes viraux présentés par des cellules de l'organisme.
2. Les LT CD4+ sécrètent des cytokines qui soutiennent l'activation des cellules immunitaires. Les LT CD8+ reconnaissent les cellules infectées présentant l'antigène associé au CMH I, puis adhèrent à elles.
3. Les LT CD8+ dégranulent et provoquent la mort de la cellule infectée. Cette destruction limite la production de nouveaux virus et freine la propagation de l'infection.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les LT CD8+, soutenus par les LT CD4+, détruisent les cellules infectées et limitent la production virale.

Diagnostic sérologique

Question Q4. Exploiter le document 3 pour justifier la recommandation de la HAS de ne pas effectuer de test sérologique dans le cadre du diagnostic précoce de l'infection COVID-19, au cours des dix premiers jours après l'apparition des symptômes.

Le document 3 montre que le génome viral devient détectable avant le début des symptômes et reste détectable pendant plusieurs semaines. En revanche, les anticorps anti-SARS-CoV-2 n'apparaissent qu'après le début des symptômes et leur concentration reste faible au cours des premiers jours. Pendant les dix premiers jours, un test sérologique peut donc ne pas détecter les anticorps alors que la personne est infectée. Il n'est pas adapté au diagnostic précoce, contrairement à la RT-PCR qui recherche le génome viral.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La sérologie peut être négative durant les dix premiers jours, car les anticorps apparaissent tardivement.

RT-qPCR

Question Q5. Montrer, en argumentant la réponse, que le cycle 2 de l'étape 2 de PCR quantitative en temps réel présente les caractéristiques fondamentales d'une PCR.

1. La dénaturation sépare les deux brins d'ADN.
2. À 62 °C, les amorces s'hybrident sur les séquences complémentaires et délimitent la région ciblée.
3. À 72 °C, l'ADN polymérase allonge les amorces en synthétisant les brins complémentaires.

Ces trois étapes sont celles d'une PCR et produisent des molécules d'ADN qui servent de matrices aux cycles suivants. La sonde TaqMan ajoute la détection de l'amplification par fluorescence, sans modifier ces étapes fondamentales.

✓ RÉPONSE À RETENIR

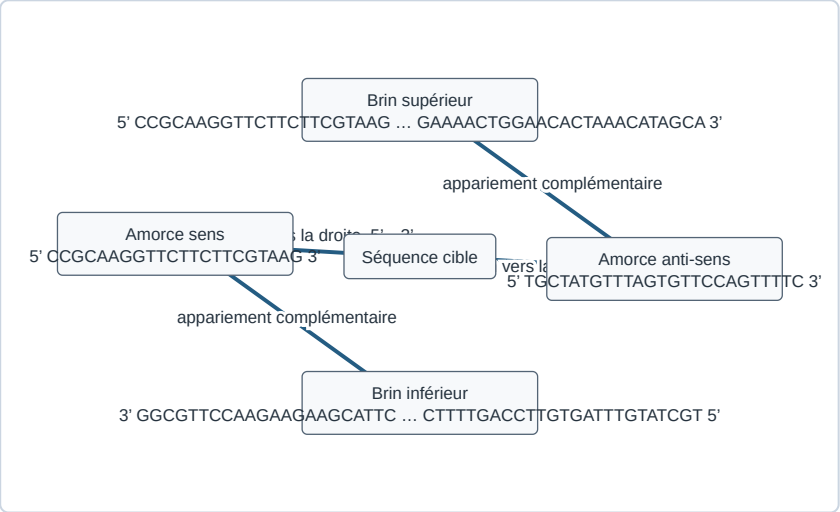
Le cycle 2 comprend dénaturation, hybridation des amorces et élongation par l'ADN polymérase : c'est une PCR.

Choix des amorces

Question Q6. Montrer, à l'aide d'un schéma, que le couple d'amorces 2 permet d'amplifier la séquence d'ADN. S'appuyer sur la complémentarité des bases et l'orientation des brins.

Le couple 2 s'apparie par complémentarité des bases : l'amorce sens s'hybride au brin inférieur, à gauche, et l'amorce anti-sens au brin supérieur, à droite. Les deux amorces sont antiparallèles aux brins auxquels elles se fixent. Leurs extrémités 3' sont orientées vers la région cible : l'amorce sens s'allonge vers la droite et l'amorce anti-sens vers la gauche. Elles encadrent ainsi la séquence à amplifier.

Appariement et orientation du couple d'amorces 2



Les amorces sont complémentaires aux séquences d'ancrage et leurs extrémités 3' pointent vers la cible.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les amorces du couple 2 s'hybrident sur des brins opposés et s'allongent l'une vers l'autre, encadrant la cible.

Température de fusion

Question Q7. Calculer la Tm de l'amorce « sens » et en déduire si elle est compatible avec la Tm de l'amorce « anti-sens », égale à 68 °C.

L'amorce sens est 5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG 3'. Elle contient 4 A, 7 T, 6 C et 5 G. Avec la formule de Wallace, on obtient **Tm = 2 × (4 + 7) + 4 × (6 + 5) = 66 °C**. L'amorce anti-sens a une Tm de 68 °C : l'écart est de 2 °C, égal à l'écart maximal autorisé. Les deux amorces sont donc compatibles selon le critère fourni.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Tm sens = 66 °C ; écart avec l'anti-sens = 2 °C : couple compatible.

Température d'hybridation

Question Q8. Argumenter par un calcul le choix de la température de l'étape d'hybridation.

Amorce	Tm	Limite supérieure de TH
Sens	66 °C	66 − 4 = 62 °C
Anti-sens	68 °C	68 − 4 = 64 °C

La température d'hybridation doit respecter les deux limites, donc être au plus égale à 62 °C. La valeur du protocole, 62 °C, convient.

✓ RÉPONSE À RETENIR

TH = 62 °C, conforme aux deux Tm et à la température du protocole.

Détection par fluorescence

Question Q9. Expliquer l'augmentation de la fluorescence au cours des cycles à partir du cycle 2 de l'étape 2.

1. La sonde TaqMan intacte porte un rapporteur et un extincteur proches : le rapporteur n'émet pas de fluorescence.
2. Pendant l'élongation, la Taq polymérase clive la sonde hybridée sur l'ADN cible. Le rapporteur est séparé de l'extincteur et émet alors de la fluorescence.
3. À partir du cycle 2, les amplicons et les sondes clivées s'accumulent au fil des cycles. L'intensité de fluorescence augmente donc avec la quantité d'ADN amplifiée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le clivage des sondes libère les rapporteurs fluorescents ; leur accumulation suit celle des amplicons.

Interprétation des témoins

Question Q10. Expliquer pourquoi aucune fluorescence n'est observée pour la courbe du témoin négatif.

Le témoin négatif contient le mélange de RT-qPCR, mais aucun ARN viral. Il ne fournit donc pas de matrice à rétrotranscrire puis à amplifier. En l'absence d'amplicon cible, la sonde TaqMan n'est pas clivée pendant l'élongation. Le rapporteur reste associé à l'extincteur, qui bloque son émission. La courbe demeure ainsi au niveau de base, sans fluorescence significative.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Sans ARN viral, aucun amplicon ni clivage de sonde ne se produit : le témoin négatif ne fluoresce pas.

Diagnostic par RT-qPCR

Question Q11. Conclure quant à la présence d'ARN viral dans l'échantillon analysé et indiquer si le patient est diagnostiqué positif.

Dans le document 6, la courbe de l'échantillon est sigmoïde, comme celle du témoin positif. Elle se situe à gauche de ce témoin dans la fenêtre de lecture et franchit la limite de détection après moins de cycles. Selon le critère indiqué, cette allure et cette position montrent que l'ARN viral est présent dans le prélèvement. Le résultat conduit donc à diagnostiquer le patient positif.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'échantillon contient de l'ARN viral : le patient est diagnostiqué positif.

Dosage de la LDH

Question Q12. Expliquer comment l'absorbance de la réaction varie au cours du temps.

La LDH catalyse la réaction **pyruvate + NADH + H^+ → lactate + NAD^+**. Le NADH absorbe à 340 nm et est consommé au cours de cette réaction, tandis que le NAD^+ formé ne contribue pas à cette absorbance. La quantité de NADH diminue donc avec le temps. Par conséquent, l'absorbance mesurée à 340 nm diminue au cours de l'incubation.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'absorbance à 340 nm diminue, car le NADH absorbant est consommé.

Calcul de la concentration d'activité catalytique

Question Q13. À partir de l'équation aux grandeurs fournie dans le document 7, établir l'équation aux unités puis l'équation aux valeurs numériques afin de calculer la concentration d'activité catalytique de la LDH dans le plasma du patient hospitalisé.

L'équation fournie est $\mathbf{b = (\Delta A/\Delta t) \times 1/(\varepsilon \times l) \times (V_{réactif} + V_{plasma})/V_{plasma} \times 10^6}$. Aux unités, elle donne $min^{-1} \times mol{\cdot}L^{-1} \times 1 \times \mu mol{\cdot}mol^{-1} = \mu mol{\cdot}min^{-1}{\cdot}L^{-1}$. Avec les volumes en mL, le rapport vaut (1 + 0,020)/0,020 = 51. Ainsi, $b = 0{,}125/(6300 \times 1) \times 51 \times 10^6$.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

b(LDH ; plasma) = 1,01 × 10^3 µmol·min^{-1}·L^{-1}.

Expression et interprétation du résultat

Question Q14. Exprimer le résultat de mesure en respectant les règles de métrologie et conclure sur l'état de ce patient.

Pour un niveau de confiance de 95 %, le document permet de choisir k = 2. L'incertitude élargie est donc U = 2 × 30 = 60 µmol·min^{-1}·L^{-1}. La valeur calculée, 1 011,9, est arrondie à la dizaine, au même rang que l'incertitude. Le résultat est 1 010 ± 60 µmol·min^{-1}·L^{-1}. Même la borne basse, 950, dépasse la limite physiologique supérieure de 400 : la concentration est très élevée et compatible avec des lésions d'organes.

✓ **RÉPONSE À RETENIR**

LDH = (1 010 ± 60) µmol·min^{-1}·L^{-1}, niveau de confiance 95 % : valeur très supérieure à la normale.

2. Synthèse sur les tests de diagnostic de la COVID-19

La synthèse s'appuie sur des ressources consacrées aux tests sérologiques, virologiques par RT-PCR et antigéniques. Elle demande de comparer leurs applications et leurs caractéristiques, puis d'argumenter l'intérêt des différents tests chez un patient présentant des symptômes.

Question de synthèse

Question Q15. Recenser les applications et les caractéristiques des tests présentés, puis argumenter l'intérêt des différents tests chez un patient présentant des symptômes.

Ces tests ciblent des éléments différents et ne répondent pas à la même question :

Test	Prélèvement et cible	Caractéristiques et application
RT-PCR	Nasopharyngé ; génome viral	Détecte la présence du virus au moment du prélèvement.
Antigénique	Nasopharyngé ; protéines virales	Rapide, moins fiable ; sensibilité supérieure à 80 % et spécificité supérieure à 99 %.
Sérologique	Sang ; anticorps IgM et/ou IgG	Indique que la personne a développé des anticorps et a contracté la COVID-19 ; ne détecte pas directement le virus.

Chez une personne symptomatique, si le résultat RT-PCR ne peut être obtenu sous 48 h, la HAS recommande un test antigénique durant les quatre premiers jours. Un résultat positif n'a pas à être confirmé ; un résultat négatif chez une personne à risque doit l'être par RT-PCR. La sérologie n'est pas adaptée au diagnostic précoce.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> RT-PCR pour détecter le virus ; test antigénique rapide si la PCR tarde ; sérologie pour détecter les anticorps, non pour le diagnostic précoce.

3. Développement d’une lessive écologique contenant une protéase

Un laboratoire veut développer une lessive écologique contenant une protéase bactérienne : il sélectionne une souche, clone le gène d’intérêt dans Escherichia coli, puis produit et purifie l’enzyme. Les questions portent sur la croissance, le clonage, l’extraction et la comparaison de méthodes chromatographiques.

Optimisation de la production

Question Q1. À partir de l’activité enzymatique présentée dans le document 1, argumenter le choix de l’espèce bactérienne à sélectionner.

Le document 1 compare directement l’activité protéasique des deux espèces : *Bacillus licheniformis* atteint 4,51 U·mL^{-1}, contre 0,34 U·mL^{-1} pour *Escherichia coli*. L’activité est donc nettement plus élevée chez *B. licheniformis*. On choisit cette espèce comme source du gène de la protéase recherchée. Le choix de l’hôte destiné à produire la biomasse sera évalué séparément à partir des courbes de croissance.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Choisir *Bacillus licheniformis* comme source du gène : activité protéasique de 4,51 U·mL^{-1}.

Croissance bactérienne

Question Q2. Déterminer la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle pour Escherichia coli.

Sur le document 2, la phase exponentielle d’*E. coli* correspond à la portion linéaire de la courbe de $\ln(C_N)$ en fonction du temps. La vitesse spécifique de croissance est la pente : $\mu = \Delta \ln(C_N)/\Delta t$. Entre 0 h et 9 h, la lecture graphique donne environ 16 puis 34. Ainsi, $\mu \approx (34-16)/(9-0) = 2,0\ \text{h}^{-1}$. Cette valeur est une estimation fondée sur la lecture de la courbe.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> $\mu_{E.coli} \approx 2,0\ \text{h}^{-1}$.

Production de biomasse

Question Q3. Argumenter l’espèce bactérienne adaptée pour la production de biomasse.

La production de biomasse se compare avec la concentration bactérienne représentée par $\ln(C_N)$. À 18 h, la courbe d’*E. coli* atteint environ 43, tandis que celle de *B. licheniformis* est proche de 21. La concentration bactérienne finale est donc beaucoup plus élevée pour *E. coli* dans les conditions testées. Cette espèce est la plus adaptée pour multiplier les bactéries productrices de la protéase.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Choisir *Escherichia coli* pour produire la biomasse.

Clonage du gène

Question Q4. Montrer l'intérêt de cloner le gène de la protéase de Bacillus licheniformis dans la bactérie Escherichia coli.

Les résultats montrent que *B. licheniformis* présente la plus forte activité protéasique, tandis qu'*E. coli* atteint une concentration bactérienne supérieure en culture. Cloner le gène codant la protéase de *B. licheniformis* dans *E. coli* combine ces deux avantages : le gène d'intérêt fournit l'information nécessaire à la production de l'enzyme recherchée, et l'hôte permet de produire une biomasse importante. La protéase pourra ensuite être extraite et purifiée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

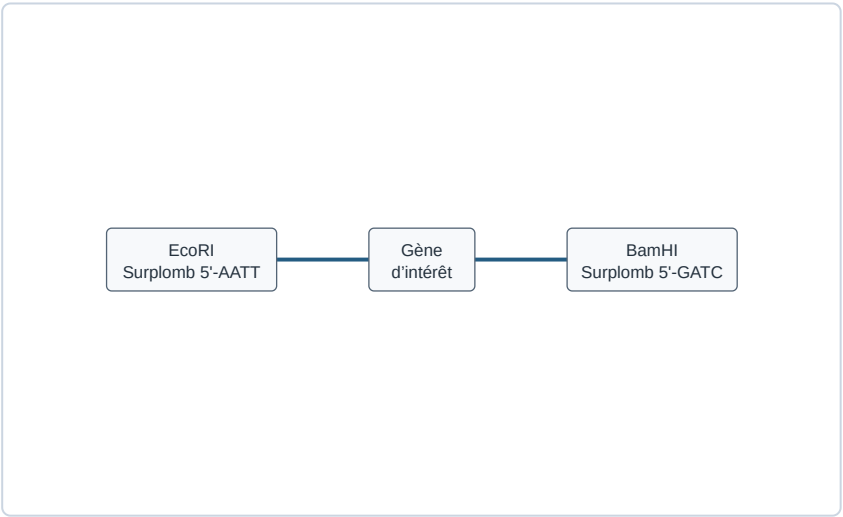
Cloner le gène de *B. licheniformis* dans *E. coli* associe protéase recherchée et forte production de biomasse.

Amplification et clonage du gène

Question Q5. Représenter sur la copie le schéma de l'insert obtenu après coupure du fragment par les deux enzymes de restriction BamHI et EcoRI.

Le document 3 place le site EcoRI à gauche du gène et le site BamHI à droite. EcoRI coupe le site $5'\text{-G}^{\text{AATTC}}\text{-}3'$ et laisse un surplomb cohésif AATT ; BamHI coupe $5'\text{-G}^{\text{GATCC}}\text{-}3'$ et laisse un surplomb GATC. Après digestion, le gène reste encadré par ces deux extrémités distinctes. Elles permettent un assemblage orienté avec un vecteur coupé par les mêmes enzymes.

Insert après digestion par EcoRI et BamHI



Les deux extrémités cohésives différentes encadrent le gène d'intérêt.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Insert digéré : extrémité EcoRI - gène d'intérêt - extrémité BamHI.

Insertion dans le plasmide

Question Q6. Montrer, à l'aide d'un schéma, que le fragment d'ADN digéré peut être inséré dans le plasmide pUC18 digéré par BamHI et EcoRI.

La digestion de l'insert et de pUC18 par EcoRI et BamHI produit des extrémités cohésives complémentaires. L'extrémité EcoRI de l'insert s'apparie au site EcoRI du plasmide, et son extrémité BamHI au site BamHI. La ligase peut alors refermer le plasmide avec l'insert entre les deux sites, qui se trouvent dans LacZ. Le gène Amp et l'origine de réplication ori restent présents ; LacZ est interrompu.

pUC18 recombinant après insertion orientée

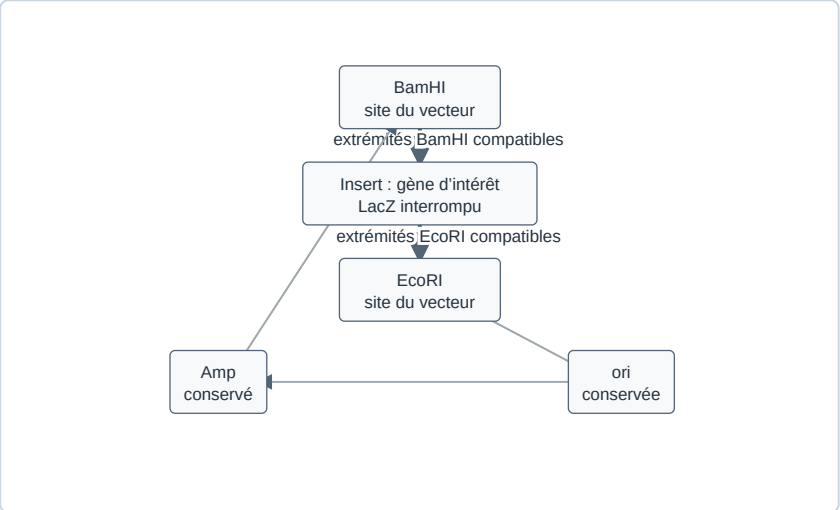


Schéma circulaire simplifié : l'insert remplace le segment de LacZ situé entre les sites BamHI et EcoRI.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'insert se ligue entre BamHI et EcoRI dans LacZ ; Amp et ori sont conservés.

Sélection des bactéries transformées

Question Q7. D'après la composition du milieu, expliquer la couleur des colonies après incubation pour les bactéries ayant intégré le plasmide pUC18 sans insert et celles ayant intégré le plasmide avec insert. Préciser la couleur des colonies à prélever pour la purification.

L'ampicilline sélectionne les bactéries ayant reçu pUC18, qui porte le gène de résistance. La couleur dépend ensuite de l'activité de la β-galactosidase codée par LacZ :

- Sans insert, LacZ reste fonctionnel : la β-galactosidase dégrade le X-gal, dont le produit colore les colonies en bleu.
- Avec insert, LacZ est interrompu : le X-gal n'est pas dégradé et les colonies restent blanches.

Les colonies blanches sont donc celles à prélever pour purifier la protéase recherchée.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Sans insert : colonies bleues. Avec insert : colonies blanches, à prélever.

Extraction et purification

Question Q8. À l'aide de la localisation de la protéase, argumenter le choix des fractions conservées aux deux premières étapes du protocole de purification.

La protéase étant localisée dans le cytoplasme, elle reste dans les bactéries lors de la première centrifugation : il faut conserver le culot et écarter le surnageant. Après lyse du culot, la protéase est libérée dans le contenu cytoplasmique. À la deuxième centrifugation, les débris cellulaires insolubles forment le culot B. La protéase soluble reste dans le surnageant, appelé fraction A, qui doit être conservé pour la suite de la purification.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Étape 1 : conserver le culot. Étape 2 : conserver le surnageant, fraction A.

Précipitation au sulfate d'ammonium

Question Q9. Argumenter le choix de la teneur en sulfate d'ammonium assurant la précipitation optimale des protéases.

La teneur optimale doit concentrer l'activité protéasique dans le culot C et en laisser le moins possible dans le surnageant D. À 40 % et 60 %, l'activité détectée dans D est respectivement de 19,58 et 8,85 $U \cdot mL^{-1}$. À 80 %, l'activité dans C est la plus élevée, à 62,84 $U \cdot mL^{-1}$, et aucune activité n'est détectée dans D. La précipitation des protéases est donc la plus complète à cette teneur.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Retenir 80 % de sulfate d'ammonium : activité maximale dans C et absence d'activité dans D.

Chromatographie d'exclusion

Question Q10. Expliquer le principe de la chromatographie d'exclusion ou gel-filtration et en déduire le type de résine Sephadex qui conviendra à la purification de la protéase.

En gel-filtration, les protéines sont séparées selon leur masse moléculaire. Les grosses molécules pénètrent peu dans les pores de la résine et sont éluées plus tôt ; les plus petites y pénètrent et sont retardées. La protéase a une masse de 30 kDa, soit $30 \times 1000 = 30\,000$ Da. Cette masse se situe dans l'intervalle de fractionnement de Sephadex G100, de 4 000 à 150 000 Da : cette résine convient à sa séparation.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Choisir Sephadex G100 : son intervalle de fractionnement comprend 30 000 Da.

Échange d'ions

Question Q11. Argumenter le choix du type de colonne échangeuse d'ions adaptée à la purification de la protéase.

La protéase possède une charge globale négative. Pour la retenir sur une colonne d'échange d'ions, la résine doit porter une charge opposée, donc positive. Une résine positive est une échangeuse d'anions : elle fixe les molécules négatives. Une résine négative, échangeuse de cations, ne serait pas adaptée à la rétention de cette protéase dans les conditions décrites.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Choisir une colonne échangeuse d'anions, portant une résine chargée positivement.

Activité spécifique

Question Q12. Calculer les valeurs de l'activité spécifique obtenue à l'issue de la mise en œuvre de chacune des deux techniques chromatographiques.

L'activité spécifique est l'activité enzymatique totale rapportée à la masse totale de protéines : $z_{sp} = z/m$. Pour la gel-filtration, $680\ \mathrm{U}/3,22\ \mu\mathrm{g} = 211\ \mathrm{U}\cdot\mu\mathrm{g}^{-1}$. Pour l'échange d'ions, $522\ \mathrm{U}/0,66\ \mu\mathrm{g} = 791\ \mathrm{U}\cdot\mu\mathrm{g}^{-1}$. Les résultats sont arrondis à trois chiffres significatifs ; l'unité est U·µg^{-1}, puisque la masse est exprimée en microgrammes.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Gel-filtration : 211 U·µg^{-1}. Échange d'ions : 791 U·µg^{-1}.

Efficacité de purification

Question Q13. Argumenter le choix de la technique de chromatographie permettant de purifier le plus efficacement la protéase.

Une activité spécifique plus élevée signifie que l'extrait contient davantage d'activité protéasique par unité de masse totale de protéines : il est donc plus enrichi en enzyme d'intérêt. L'échange d'ions atteint 791 U·µg^{-1}, contre 211 U·µg^{-1} pour la gel-filtration. Parmi les deux techniques testées, la chromatographie échangeuse d'ions est donc la plus efficace pour purifier la protéase.

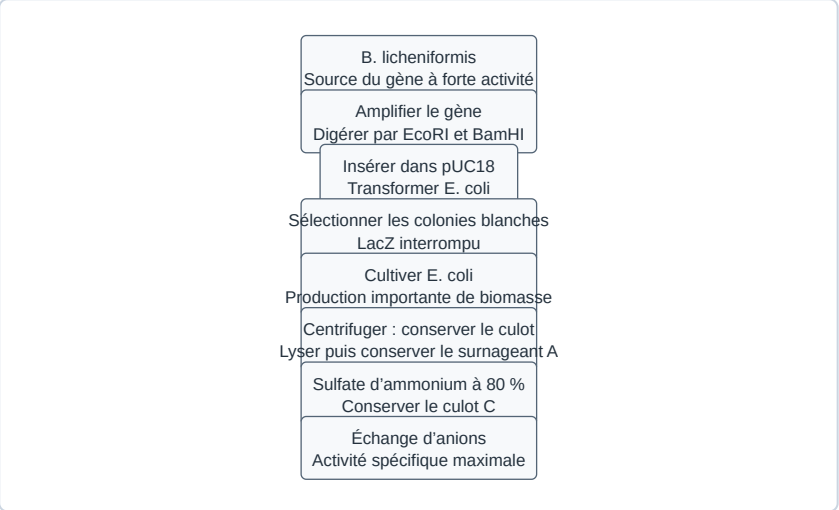
> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La chromatographie échangeuse d'ions est la plus efficace : 791 U·µg^{-1}.

Synthèse des choix du laboratoire

Question Q14. Présenter, sous forme d'un organigramme, les choix pris par le laboratoire pour optimiser la production de la protéase afin de développer une lessive écologique.

Les choix retenus associent une souche source à forte activité protéasique et un hôte permettant une forte production de biomasse. Le gène est amplifié puis inséré dans pUC18 par les sites EcoRI et BamHI ; les colonies blanches portent l'insert recherché. La protéase étant cytoplasmique, on conserve le culot bactérien puis le surnageant A après lyse. À l'étape 3, 80 % de sulfate d'ammonium concentre l'activité dans le culot C. La purification finale privilégie l'échange d'anions, qui donne la plus forte activité spécifique.

Organigramme des choix pour produire et purifier la protéase



Parcours sélectionné d'après les documents 1 à 9.

✓ RÉPONSE À RETENIR

B. licheniformis : source du gène. *E. coli* : hôte. Colonies blanches, culot puis fraction A, sulfate d'ammonium à 80 %, échange d'anions.

4. Modification génétique et réglementation des organismes obtenus

La synthèse compare la modification génétique par vecteur plasmidique et la mutagenèse dirigée par CRISPR-Cas9. Les ressources présentent l'incorporation ou la disparition du matériel génétique introduit, des risques associés et la position du Conseil d'État sur la réglementation applicable.

Question de synthèse

Question Q15. En distinguant les principales caractéristiques des deux procédés de modification d'un gène, proposer des arguments pour expliquer la position du Conseil d'État.

La transgenèse par plasmide introduit dans l'organisme un gène d'intérêt étranger, susceptible d'être intégré au génome et transmis. CRISPR-Cas9 cible une séquence précise et provoque une mutation ; le matériel introduit pour réaliser la modification n'est pas destiné à demeurer durablement dans l'organisme.

Cette différence n'écarte pas les risques : CRISPR-Cas9 peut provoquer des mutations indésirables ou des cancers. Le Conseil d'État soumet donc aux obligations OGM les organismes issus des techniques de mutagenèse récentes, comme CRISPR-Cas9. Il exempte les variétés obtenues par des techniques anciennes dont la sécurité est établie de longue date.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les organismes issus de mutagenèses récentes sont soumis à la réglementation OGM, malgré l'absence de matériel introduit durablement, en raison des risques possibles. Les techniques anciennes à sécurité établie sont exemptées.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2021)

Bilan de l'épreuve : Épreuve de spécialité Biochimie, Biologie et Biotechnologies du baccalauréat technologique STL, session 2021, code 21-TL3BME3, durée trois heures, sans coefficient imprimé. Le candidat choisit un sujet : diagnostic de la COVID-19 ou développement d'une lessive écologique à protéase. Les compétences évaluées comprennent l'analyse, les calculs, l'interprétation, l'argumentation, la synthèse et la communication écrite.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- La RT-qPCR associe la rétrotranscription de l'ARN en ADN complémentaire à l'amplification par PCR et à une détection fluorescente.
- Formule de Wallace : Tm = 2 × (nA + nT) + 4 × (nC + nG) ; l'écart entre les Tm des deux amorces doit être inférieur ou égal à 2 °C.
- L'activité spécifique d'une enzyme est l'activité enzymatique totale divisée par la masse totale de protéines de la fraction étudiée.
- La gel-filtration sépare selon la masse moléculaire ; l'échange d'ions retient les protéines selon leur charge.

Points de vigilance & attentes du jury

- Comparer la courbe de l'échantillon aux témoins positif et négatif avant de conclure à partir d'une RT-qPCR.
- Pour un calcul, écrire les unités, établir l'équation aux unités et présenter clairement le remplacement numérique.
- Dans les schémas d'ADN, vérifier la complémentarité des bases, les sites de restriction et l'orientation 5' vers 3'.
- Distinguer concentration d'activité, activité enzymatique totale et activité spécifique lors de l'analyse des résultats.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment choisir une température d'hybridation à partir des Tm des amorces ?

La température d'hybridation doit être inférieure d'au moins 4 °C au Tm de chaque amorce. Vérifiez donc cette condition pour les deux amorces et retenez une température compatible avec chacune.

Q : Comment comparer l'efficacité de deux techniques de purification ?

Calculez l'activité spécifique de chaque fraction en divisant l'activité enzymatique totale par la masse totale de protéines. Une activité spécifique plus élevée indique un enrichissement plus important en protéase dans la fraction.

Q : Le candidat doit-il traiter les deux sujets et comment gérer le temps ?

Non, le candidat choisit un seul sujet et le traite intégralement. La durée totale est de trois heures. La partie I dure 2 h 30 à titre indicatif et la partie II 30 minutes.

Q : Le sujet donne-t-il un barème détaillé par question ou un coefficient ?

Le sujet indique une pondération commune des compétences, totalisant 20 points, mais ne répartit pas les points question par question. Aucun coefficient de l'épreuve n'est imprimé.

Sujet officiel associé (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2021/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2021 - 1-Sujet.pdf

Ressources Bac STL : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

Ce document a été élaboré par FormaV® avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV®, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV® se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.