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

Sciences et technologies de laboratoire - Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Session 2025 • Code sujet : **25-TL3BME1** • Durée : **3 heures**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. **Questionnement scientifique et technologique** (16 questions) — **Page 3**

2. **Question de synthèse : bioremédiation des métaux lourds** (1 question) — **Page 9**

3. **Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ)** (Synthèse & Q&A Examen) — **Page 10**

Sujet officiel (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2025/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2025 - 2-Sujet.pdf

1. Questionnement scientifique et technologique

Une équipe de recherche souhaite produire la mercure-réductase, enzyme qui transforme les ions mercure en mercure élémentaire moins toxique. Les questions portent sur le choix d'une bactérie modèle, la construction et la sélection d'E. coli recombinante, puis sur la purification et la caractérisation de l'enzyme.

Choix du modèle biologique

Question Q1. Citer les conditions favorables à la culture de Cupriavidus metallidurans et d'E. coli, puis déterminer le type trophique de ces deux bactéries à partir des conditions de culture comparées.

Bactérie	Conditions favorables observées	Type trophique
Cupriavidus metallidurans	30 °C, anaérobiose, nitrates comme source d'énergie et CO_2 comme source de carbone	Chimioautotrophe
E. coli	37 °C, glucose comme source d'énergie et de carbone, en aérobiose ou en anaérobiose	Chimiohétérotrophe

Le trouble après 24 h indique une croissance. *C. metallidurans* ne pousse que dans le milieu C en anaérobiose, tandis qu'*E. coli* pousse dans le milieu B avec glucose, dans les deux conditions d'oxygénation. Le CO_2 est une source de carbone minérale et le glucose une source organique.

✓ RÉPONSE À RETENIR

C. metallidurans : chimioautotrophe, 30 °C en anaérobiose. *E. coli* : chimiohétérotrophe, 37 °C avec glucose, en aérobiose ou anaérobiose.

Question Q2. À partir du graphique de croissance d'E. coli en milieu non renouvelé, indiquer le temps de début et le temps de fin de la phase de croissance exponentielle.

La phase exponentielle correspond à la portion où lnD augmente de manière approximativement linéaire avec le temps. Sur le graphique, cette portion commence vers 75 min et se termine vers 135 min. Avant 75 min, la croissance est encore lente et la pente augmente ; après 135 min, la pente diminue et la courbe tend vers un plateau. Les limites se lisent approximativement sur l'axe du temps, gradué en minutes.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Phase exponentielle : environ 75 à 135 min.

Question Q3. Déterminer par le calcul le temps de génération G d'E. coli et le comparer à celui de Cupriavidus metallidurans, donné comme égal à 128 ± 12 h.

Dans la portion linéaire, on lit $\ln D_1 \approx -0{,}45$ à 75 min et $\ln D_2 \approx 1{,}35$ à 135 min. Ainsi, $\mu_{expo} = (1{,}35 - (-0{,}45))/(135 - 75) = 0{,}030\ min^{-1}$. Le temps de génération vaut $G = \ln(2)/\mu_{expo} = 0{,}693/0{,}030 \approx 23$ min. Pour comparaison, 128 h correspondent à 7 680 min, avec une incertitude de 720 min : *E. coli* se divise donc beaucoup plus rapidement.

✓ RÉPONSE À RETENIR

E. coli : G ≈ 23 min. *C. metallidurans* : 128 ± 12 h, soit 7 680 ± 720 min.

Question Q4. Argumenter le choix d'E. coli pour remplacer Cupriavidus metallidurans en vue de concevoir une souche recombinante et de produire industriellement la mercure-réductase.

E. coli est un choix pertinent pour la production industrielle : elle est chimiohétérotrophe et se cultive simplement sur glucose, à 37 °C, en présence ou en absence d'oxygène. Sa croissance est rapide, avec un temps de génération d'environ 23 min, très inférieur aux 128 ± 12 h de *C. metallidurans* ; elle permet donc d'obtenir rapidement une biomasse importante. Enfin, les résultats d'activité montrent que la mercure-réductase produite par la souche recombinante est fonctionnelle et atteint une activité maximale supérieure à celle de l'enzyme d'origine.

✓ RÉPONSE À RETENIR

E. coli convient : culture simple, croissance rapide et production d'une mercure-réductase fonctionnelle, à activité maximale supérieure.

Construction du plasmide recombinant

Question Q5. Argumenter l'intérêt d'ajouter des sites de restriction EcoRI de part et d'autre de la séquence du gène merA afin d'obtenir le plasmide recombinant.

Les deux sites EcoRI encadrant *merA* permettent de digérer l'amplicon et le vecteur pET-28a avec la même enzyme. La coupure donne des extrémités cohésives compatibles, que la ligase peut réunir pour insérer le gène dans le site de clonage multiple. Le document indique que *merA* ne possède pas de site EcoRI interne : sa séquence ne sera donc pas coupée lors de la digestion. Cette stratégie rend possible l'obtention du plasmide recombinant.

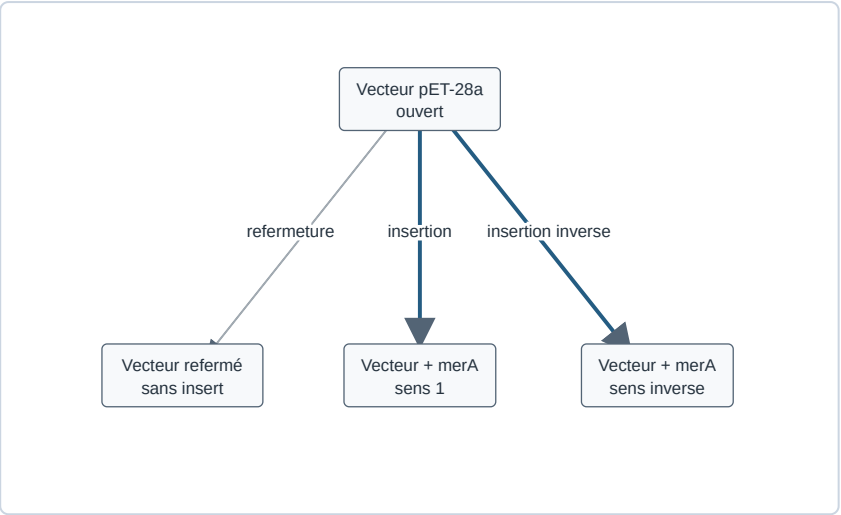
✓ RÉPONSE À RETENIR

EcoRI crée des extrémités compatibles pour insérer *merA* dans pET-28a sans couper le gène.

Question Q6. Expliquer à l'aide d'un schéma comment l'étape de ligation peut aboutir à au moins trois plasmides différents.

Après digestion par EcoRI, le vecteur ouvert et l'insert portent des extrémités compatibles. La ligase peut refermer le vecteur sans insert. Si l'insert est intégré, ses extrémités identiques ne fixent pas son orientation : il peut se ligaturer dans le sens du vecteur ou dans le sens inverse. Ces trois configurations constituent des plasmides distincts possibles après ligation.

Trois produits possibles de la ligation EcoRI



Les deux orientations de l'insert sont possibles car les extrémités EcoRI sont identiques.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Trois possibilités : vecteur refermé sans insert, ou plasmide recombinant avec *merA* dans l'un des deux sens.

Transformation et sélection

Question Q7. Préciser l'intérêt d'utiliser un milieu supplémenté en kanamycine pour sélectionner les bactéries transformées.

Le plasmide pET-28a porte le gène KanR, qui confère la résistance à la kanamycine. Sur un milieu contenant cet antibiotique, les bactéries non transformées, naturellement sensibles, ne se développent pas. Les bactéries qui poussent ont donc reçu un plasmide porteur de KanR. Cette sélection indique la transformation par le vecteur, mais ne prouve pas que le plasmide contient aussi l'insert *merA* : une vérification par PCR reste nécessaire.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La kanamycine sélectionne les bactéries ayant reçu un plasmide porteur de KanR.

Question Q8. Interpréter les résultats de l'électrophorégramme de PCR sur colonie et conclure sur la présence ou l'absence du plasmide recombinant dans les quatre colonies testées.

L'amplicon attendu en présence de *merA* mesure 741 pb. Les pistes 1 et 3 présentent une bande à la hauteur correspondant à environ 750 pb sur le marqueur, compatible avec 741 pb. Les pistes 2 et 4 ne présentent pas cette bande. Le contrôle 5, sans suspension bactérienne, est également dépourvu de bande, ce qui ne révèle pas de contamination détectable. La PCR met donc en évidence le plasmide recombinant dans les colonies 1 et 3.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Plasmide recombinant détecté dans les colonies 1 et 3, non détecté dans les colonies 2 et 4.

Question Q9. Expliquer pourquoi certaines bactéries peuvent cultiver sur un milieu supplémenté en kanamycine sans qu'une bande caractéristique apparaisse lors de l'analyse PCR des colonies.

La kanamycine sélectionne la présence du gène de résistance KanR, mais pas celle de *merA*. Une bactérie peut donc pousser après avoir reçu un plasmide pET-28a refermé sans insert : ce plasmide conserve KanR. Les amorces utilisées en PCR ciblent *merA* ; en l'absence de ce gène, aucun amplicon caractéristique de 741 pb n'est produit. La croissance sur kanamycine ne suffit donc pas à confirmer la réussite du clonage.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Un plasmide vide porte aussi KanR : la bactérie pousse, mais la PCR ne détecte pas *merA*.

Purification et caractérisation de l'enzyme

Question Q10. Expliquer le rôle des étapes 1 à 3 de la purification par immunochromatographie et préciser la composition des fractions recueillies.

Lors de l'étape 1, la mercure-réductase se fixe aux anticorps immobilisés ; les protéines non retenues sont récupérées dans la fraction A. À l'étape 2, le lavage entraîne les contaminants restés dans la colonne, recueillis dans la fraction B, tandis que l'enzyme demeure liée. À l'étape 3, le compétiteur déplace l'enzyme des anticorps ; la fraction C contient donc la mercure-réductase éluée avec le compétiteur. Les fractions A et B contiennent principalement des contaminants.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> A et B : fractions de contaminants. C : mercure-réductase éluée avec le compétiteur.

Question Q11. Argumenter le choix d'une longueur d'onde de travail de 340 nm plutôt que de 260 nm pour suivre la réaction enzymatique.

Le spectre montre qu'à 340 nm le NADPH absorbe, alors que le $NADP^+$ absorbe très peu. La variation d'absorbance à cette longueur d'onde suit donc principalement la disparition du NADPH au cours de son oxydation. À 260 nm, les deux formes absorbent fortement ; cette longueur d'onde ne permet pas de distinguer aussi spécifiquement le substrat de son produit. Le suivi à 340 nm est donc le plus adapté à cette réaction.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> 340 nm permet de suivre la consommation du NADPH ; à 260 nm, NADPH et $NADP^+$ absorbent tous deux.

Question Q12. Argumenter le sens d'évolution de l'absorbance et celui de la concentration en NADPH dans les conditions de la réaction étudiée.

La réaction est Hg^{2+} + NADPH → Hg^{0} + $NADP^{+}$ + H^{+} : le NADPH est consommé et sa concentration diminue. À 340 nm, le NADPH absorbe beaucoup plus que le $NADP^{+}$, comme le montre le spectre du document 6. Au fur et à mesure de l'oxydation du NADPH, la quantité de molécules absorbantes diminue ; l'absorbance mesurée diminue donc également.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La concentration en NADPH et l'absorbance à 340 nm diminuent au cours de la réaction.

Question Q13. Déterminer, à partir du graphique de cinétique enzymatique, la durée de la période initiale.

La période initiale correspond au début de la courbe, où la concentration en NADPH diminue rapidement et de manière presque linéaire. Sur le graphique, cette portion va de l'instant du déclenchement, t = 0 min, jusqu'à environ t = 1,5 min. Au-delà, la pente diminue nettement ; la vitesse n'est alors plus celle de la période initiale. La durée se lit directement sur l'axe du temps.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Durée de la période initiale : environ 1,5 min.

Question Q14. Établir les équations aux unités et aux valeurs numériques, puis calculer la vitesse initiale de la mercure-réductase recombinante d'E. coli en mmol·L⁻¹·min⁻¹.

Sur la période initiale, on lit $c_1 \approx 0{,}25$ mmol·L⁻¹ à $t_1 = 0$ min et $c_2 \approx 0{,}08$ mmol·L⁻¹ à $t_2 = 1{,}5$ min. L'équation aux unités est (mmol·L⁻¹)/min = mmol·L⁻¹·min⁻¹. Ainsi, $v_i = |(c_2 - c_1)/(t_2 - t_1)| = |(0{,}08 - 0{,}25)/(1{,}5 - 0)| \approx 0{,}11$ mmol·L⁻¹·min⁻¹. La valeur est positive car on exprime une vitesse de consommation en valeur absolue.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> $v_i \approx 0{,}11$ mmol·L⁻¹·min⁻¹.

Question Q15. Déterminer la valeur de la vitesse initiale maximale de la mercure-réductase recombinante, puis comparer son efficacité à celle de l'enzyme extraite de Cupriavidus metallidurans, dont la vitesse initiale maximale est de 0,134 mmol·L⁻¹·min⁻¹.

Le plateau du graphique du document 7 atteint environ 0,165 mmol·L⁻¹·min⁻¹ : c'est la vitesse initiale maximale de la mercure-réductase recombinante. Elle dépasse la valeur de 0,134 mmol·L⁻¹·min⁻¹ mesurée pour l'enzyme de *C. metallidurans*. L'écart est d'environ 0,031 mmol·L⁻¹·min⁻¹. Selon les mesures réalisées avec la même procédure, l'enzyme produite par *E. coli* présente donc une activité maximale plus élevée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

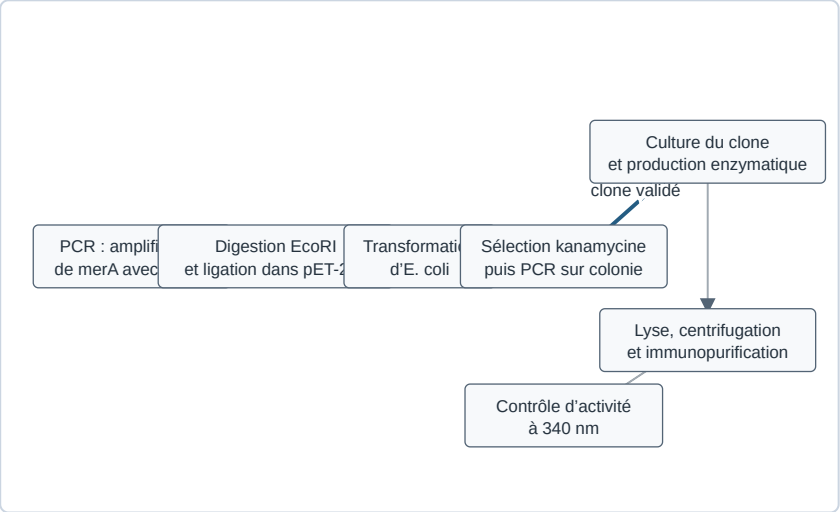
v_i max ≈ 0,165 mmol·L^{-1}·min^{-1}, contre 0,134 mmol·L^{-1}·min^{-1} pour *C. metallidurans*.

Bilan

Question Q16. Récapituler sous forme d'un diagramme opérationnel les étapes de la démarche mise en œuvre pour obtenir une mercure-réductase recombinante fonctionnelle et facile à produire.

Le procédé commence par l'amplification de *merA*, puis sa ligation dans le vecteur pET-28a. Après transformation, la kanamycine sélectionne les bactéries porteuses du plasmide et la PCR identifie les clones contenant l'insert. Le clone validé est cultivé pour produire l'enzyme. Après lyse et centrifugation, le surnageant est purifié par immunochromatographie. L'activité de l'enzyme purifiée est enfin contrôlée par le suivi du NADPH à 340 nm.

Étapes opérationnelles de production de la mercure-réductase recombinante



Du gène merA à l'obtention et au contrôle fonctionnel de l'enzyme purifiée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Amplifier *merA*, cloner dans pET-28a, transformer et sélectionner *E. coli*, vérifier par PCR, produire, purifier et tester l'enzyme.

2. Question de synthèse : bioremédiation des métaux lourds

La partie présente les limites économiques et durables des méthodes conventionnelles de dépollution, ainsi que des exemples de bioremédiation par les plantes et les champignons. Les documents abordent la valorisation des métaux accumulés et l'action conjointe de plantes, de champignons et de bactéries dans la métaremédiation.

Question de synthèse

Question Q17. Après avoir défini la bioremédiation, argumenter en faveur d'une approche combinée de type métaremédiation.

La bioremédiation utilise des organismes vivants pour dépolluer un milieu. La métaremédiation associe plantes, champignons et bactéries : les plantes absorbent et accumulent des métaux, tandis que les champignons mycorhiziens favorisent leur croissance en leur apportant eau et nutriments. L'action conjointe de ces organismes peut accélérer et améliorer la dégradation de molécules complexes. Un projet de phytoremédiation assistée a approché 50 % d'élimination de certains métaux en six mois. Pour limiter leur transfert aux herbivores, les plantes accumulatrices doivent être récoltées ; leurs feuilles peuvent ensuite être valorisées en éco-catalyse. Cette approche durable peut compléter les traitements conventionnels, coûteux et peu durables.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> La métaremédiation associe plantes, champignons et bactéries pour dépolluer les milieux. La récolte et la valorisation des plantes accumulatrices limitent le transfert des métaux et favorisent leur recyclage.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2025)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve de spécialité STL, session 2025, porte le code 25-TL3BME1, dure 3 heures et n'indique pas de coefficient. Elle étudie la production de mercure-réductase par E. coli recombinante, du choix du modèle bactérien à la purification et à la mesure d'activité. Une seconde partie évalue la compréhension de la bioremédiation et de la métaremédiation des métaux lourds.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- En phase exponentielle, $\mu expo = (\ln D_2 - \ln D_1)/(t_2 - t_1)$, puis le temps de génération vaut $G = \ln 2/\mu expo$.
- La digestion par EcoRI crée des extrémités compatibles sur le vecteur et l'insert, que la ligase peut réunir.
- La vitesse initiale se calcule par $vi = |\Delta c/\Delta t|$ pendant la portion initiale linéaire de la cinétique.
- La métaremédiation considère l'action conjointe des plantes, des champignons et des bactéries dans l'écosystème contaminé.

Points de vigilance & attentes du jury

- Pour déterminer un type trophique, identifier séparément la source d'énergie et la source de carbone.
- Lire les axes et les unités des graphiques avant de relever des temps, des concentrations ou des vitesses.
- Distinguer la sélection par résistance à la kanamycine de la vérification spécifique de merA par PCR.
- Dans la synthèse, définir la bioremédiation puis justifier les apports et les limites d'une approche combinée.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment calculer le temps de génération à partir du graphique de croissance ?

Repérez deux points de la phase exponentielle, calculez μexpo en divisant la variation de ln D par la durée, puis appliquez $G = \ln 2/\mu expo$. Vérifiez la cohérence des unités de temps.

Q : Pourquoi suivre la réaction enzymatique à 340 nm ?

Le NADPH absorbe à 340 nm, contrairement au $NADP^+$ qui y absorbe très peu. Son oxydation pendant la réaction entraîne donc une variation mesurable de l'absorbance, liée à sa concentration.

Q : Comment organiser les trois heures de l'épreuve ?

Le sujet indique à titre indicatif 2 h 30 pour le questionnement scientifique et technologique et 30 minutes pour la synthèse. Gardez du temps pour vérifier les calculs, les unités et la clarté des réponses.

Q : Le sujet donne-t-il un barème détaillé pour chaque question ?

Aucun barème chiffré par question n'est imprimé. La page de garde indique les pondérations globales des compétences C1 à C6, pour un total de 20 points, sans répartition entre les questions.

Sujet officiel associé (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2025/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2025 - 2-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.