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

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2025

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Mercredi 18 juin 2025

Durée de l'épreuve : **3 heures**

L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collège », est autorisé.

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce document comporte 13 pages numérotées de 1/13 à 13/13.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	**C2**	**C3**	**C4**	**C5**	**C6**
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
2 points	2 points	5 points	5 points	5 points	1 point

DÉGRADATION DE MÉTAUX LOURDS PAR LES BACTÉRIES MÉTALLO-RÉSISTANTES

Les métaux lourds sont naturellement présents dans l'environnement en faibles quantités. Parmi eux, le mercure est considéré par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) comme l'un des « dix produits chimiques gravement préoccupants pour la santé publique ». Une quantité élevée de mercure oxydé et/ou méthylé peut, en cas d'accumulation dans l'organisme d'un enfant, affecter certaines fonctions cérébrales et provoquer, par exemple, des retards psychomoteurs ou des retards de croissance.

La présence d'ions mercure dans l'alimentation peut être une des sources de contamination de l'être humain. Il peut ainsi provenir de l'ingestion :

- de fruits ou de légumes, quand les boues organiques des stations d'épuration riches en métaux lourds sont utilisées comme fertilisants ;
- d'organismes bioaccumulateurs tels que les fruits de mer.

Pour diminuer, voire éliminer, les ions mercure présents dans l'environnement, des chercheurs envisagent d'utiliser une enzyme issue de *Cupriavidus metallidurans*, bactérie naturellement résistante au mercure. Cette enzyme, la mercure-réductase, transforme les ions mercure en élément mercure, forme moins toxique.

Partie I – Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2 h 30)

Des scientifiques d'un département « recherche et développement » (R&D) d'une entreprise souhaitent développer un procédé de bioproduction de l'enzyme mercure-réductase à partir d'une bactérie productrice.

La démarche d'étude est la suivante :

- choix d'un modèle bactérien de production de l'enzyme ;
- production de l'enzyme mercure-réductase par *Escherichia coli* (*E. coli*) ;
- purification et caractérisation de l'enzyme produite par *E.coli*.

1. CHOIX DU MODÈLE BIOLOGIQUE EN VUE DE LA PRODUCTION DE L'ENZYME MERCURE-RÉDUCTASE

Les industriels considèrent qu'une souche bactérienne est un modèle optimal de production d'une molécule d'intérêt lorsqu'elle possède les caractéristiques suivantes :

- chimiohétérotrophe, pour une mise en œuvre de culture facilitée ;
- croissance rapide ;
- production de biomasse importante ;
- rendement de production élevé de la molécule d'intérêt.

Afin de savoir si *E. coli* est un bon modèle pour produire la mercure-réductase, les conditions de culture de *Cupriavidus metallidurans* et *E. coli* sont comparées dans le **document 1**.

Q1. (C1) Citer les conditions favorables à la culture de *Cupriavidus metallidurans* et d'*E. coli* et déterminer le type trophique de ces deux bactéries.

Le **document 2** présente l'étude de la croissance en milieu non renouvelé d'*E. coli*.

Q2. (C1) Indiquer le temps de début et le temps de fin de la phase de croissance exponentielle de la souche.

Q3. (C2) Déterminer par le calcul le temps de génération *G* de la souche d'*E. coli* et le comparer à celui de *Cupriavidus metallidurans*.

> ***Donnée*** : le temps de génération de la souche de *Cupriavidus metallidurans* est de 128 ± 12 h.

Q4. (C4) Argumenter le choix de la bactérie *E. coli* pour remplacer *Cupriavidus metallidurans* afin de concevoir une souche recombinante et produire industriellement la mercure-réductase.

2. MISE AU POINT D'UNE SOUCHE RECOMBINANTE D'*E. COLI* PRODUCTRICE DE MERCURE-RÉDUCTASE

La mercure-réductase est une enzyme codée par le gène *merA*.
Afin de faire produire cette enzyme par *E. coli*, un plasmide recombinant est réalisé en introduisant le gène *merA* dans un vecteur d'expression. Une souche d'*E. coli* est ensuite transformée avec ce plasmide recombinant.
Le vecteur d'expression, pET-28a, utilisé lors de cette expérience est présenté dans le **document 3**.

2.1. Construction du plasmide recombinant

Dans un premier temps, le gène *merA* est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide d'amorces. Ces dernières permettent d'obtenir des amplicons comportant un site de restriction *Eco*RI localisé de part et d'autre de la séquence du gène amplifiée.
Dans un second temps, le plasmide pET-28a et les amplicons sont digérés par l'enzyme de restriction *Eco*RI.
Enfin, une étape de ligation est mise en œuvre pendant laquelle le plasmide et les amplicons sont incubés ensemble en présence d'une ligase.

Q5. (C4) Argumenter l'intérêt d'ajouter des sites de restriction *Eco*RI de part et d'autre de la séquence du gène *merA* dans l'objectif d'obtenir le plasmide recombinant.

Q6. (C3) Expliquer, à l'aide d'un schéma, qu'il est possible d'obtenir au moins trois plasmides différents à l'issue de l'étape de ligation.

2.2. Transformation d'*E. coli* et sélection des bactéries recombinantes

Les bactéries *E.coli* naturellement sensibles à la kanamycine sont mises en présence du plasmide recombinant et soumises à un choc thermique. Cette approche expérimentale vise à déstabiliser la membrane des bactéries afin d'y introduire le plasmide.

Q7. (C4) Préciser l'intérêt d'utiliser un milieu supplémenté en kanamycine pour sélectionner les bactéries transformées.

Afin de vérifier l'efficacité de la stratégie de clonage, une PCR sur colonie est réalisée avec les amorces *merA*-F et *merA*-R. Le principe, le protocole et les résultats de cette expérience sont présentés dans le **document 4.**

Q8. (C3) Interpréter les résultats de l'électrophorégramme pour conclure sur la présence ou l'absence du plasmide recombinant dans les quatre colonies testées.

Q9. (C3) Expliquer pourquoi certaines bactéries peuvent cultiver sur milieu supplémenté en kanamycine sans que l'analyse, par PCR, des colonies obtenues n'aboutisse à une bande caractéristique sur l'électrophorégramme.

3. PURIFICATION ET CARACTÉRISATION DE L'ENZYME PRODUITE PAR *E. COLI*

Les bactéries recombinantes obtenues permettent de produire la mercure-réductase.
Afin de tester l'activité de l'enzyme produite par *E. coli*, il est nécessaire de l'extraire et de la purifier. Pour cela, la méthode d'immunochromatographie décrite dans le **document 5** est utilisée.

Q10. (C3) Expliquer le rôle des étapes 1 à 3 de la purification par immunochromatographie en précisant la composition des fractions recueillies.

Afin de vérifier l'efficacité de l'enzyme purifiée produite par *E. coli* recombinante, une vitesse initiale de l'enzyme, dans les conditions expérimentales mises en œuvre, est déterminée dans la fraction contenant l'enzyme. Le **document 6** présente le principe, la procédure opératoire et les résultats obtenus.

Q11. (C4) Argumenter le choix de la longueur d'onde de travail de 340 nm et non de 260 nm.

Q12. (C4) Argumenter le sens d'évolution de l'absorbance d'une part, et de la $c_{(NADPH\ ;\ solution)}$ d'autre part.

Q13. (C1) Déterminer la durée de la période initiale de la cinétique enzymatique.

Q14. (C2) Établir les équations aux unités et aux valeurs numériques puis calculer la valeur de la vitesse initiale de la mercure-réductase recombinante d'*E. coli* en $mmol \cdot L^{-1} \cdot min^{-1}$.

La même expérience que celle présentée dans le **document 6** est reproduite plusieurs fois en modifiant la concentration en ions mercure Hg^{2+}. Le **document 7** présente l'effet de la concentration en ions mercure Hg^{2+} sur l'activité enzymatique de la mercure-réductase.

Q15. (C3) Déterminer la valeur de la $v_{i\,max}$ de la mercure-réductase recombinante et conclure sur l'efficacité de l'enzyme extraite à partir d'*E. coli* recombinante par rapport à celle extraite de *Cupriavidus metallidurans*.

> ***Donnée*** : la $v_{i\,max}$ de la mercure-réductase extraite de *Cupriavidus metallidurans* a été déterminée selon la même procédure opératoire et est égale à $0{,}134\ mmol \cdot L^{-1} \cdot min^{-1}$.

BILAN

Q16. (C5) 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.

Partie II – Question de synthèse (durée indicative 30 min)

Les méthodes conventionnelles de dépollution des sols consistent :

- soit à confiner la pollution ;
- soit à prélever la terre contaminée et la traiter chimiquement.

Étant donnés les volumes de sols à traiter, ces approches, très coûteuses, se chiffrent souvent en millions d'euros et ne constituent pas des solutions durables. Ces dernières années, des projets de bioremédiation, alternatifs aux approches mécaniques et chimiques et plus durables, ont été développés. Le **document 8** en présente certains.

Q17. (C5) Après avoir défini la bioremédiation, argumenter en faveur d'une approche combinée de type métaremédiation.

DOCUMENT 1 : Comparaison des conditions de culture de *Cupriavidus metallidurans* et d'*E. coli* pour déterminer leur type trophique

Les milieux A, B ou C, présentant des sources de carbone et des sources d'énergie différentes, sont ensemencés avec *Cupriavidus metallidurans* ou *E. coli* puis cultivés dans les conditions indiquées dans chaque tableau. L'aspect du milieu de culture est observé après 24 h.

Étude des conditions de culture de *Cupriavidus metallidurans*

Milieux	A		B		C	
Source d'énergie	Lumière		Glucose		Nitrates	
Source de carbone	CO_2		Glucose		CO_2	
Conditions de culture	30 °C en aérobiose	30 °C en anaérobiose	30 °C en aérobiose	30 °C en anaérobiose	30 °C en aérobiose	30 °C en anaérobiose
Aspect du milieu après incubation	Limpide	Limpide	Limpide	Limpide	Limpide	Trouble

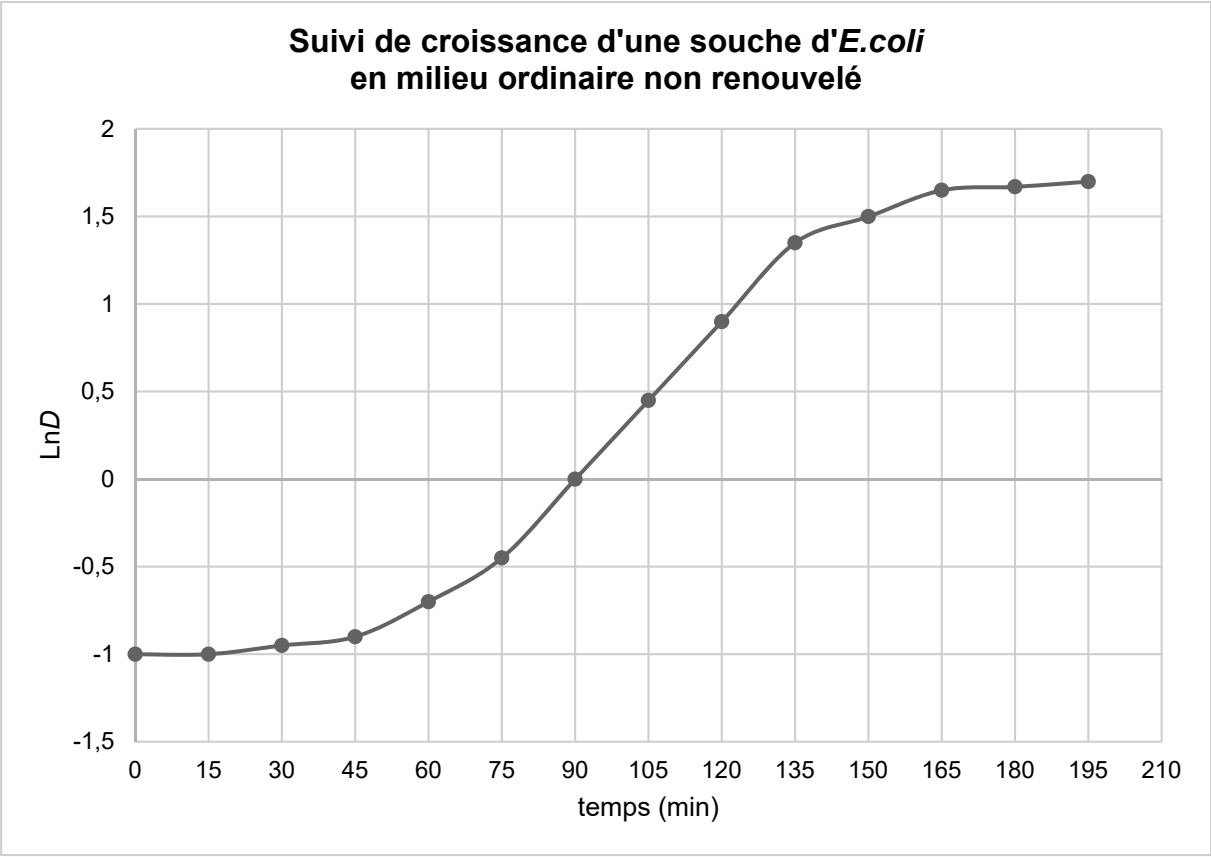
Étude des conditions de culture d'*E. coli*

Milieux	A		B		C	
Source d'énergie	Lumière		Glucose		Nitrates	
Source de carbone	CO_2		Glucose		CO_2	
Conditions de culture	37 °C en aérobiose	37 °C en anaérobiose	37 °C en aérobiose	37 °C en anaérobiose	37 °C en aérobiose	37 °C en anaérobiose
Aspect du milieu après incubation	Limpide	Limpide	Trouble	Trouble	Limpide	Limpide

Les différents types trophiques

Sources d'énergie	**Sources de carbone**	**Types trophiques**
Lumière **PHOTO-**	Organique **-HÉTÉROTROPHE**	Photohétérotrophe
	Minérale **-AUTOTROPHE**	Photoautotrophe
Composés chimiques **CHIMIO-**	Organique **-HÉTÉROTROPHE**	Chimiohétérotrophe
	Minérale **-AUTOTROPHE**	Chimioautotrophe

DOCUMENT 2 : **Étude de la croissance d'*E. coli***



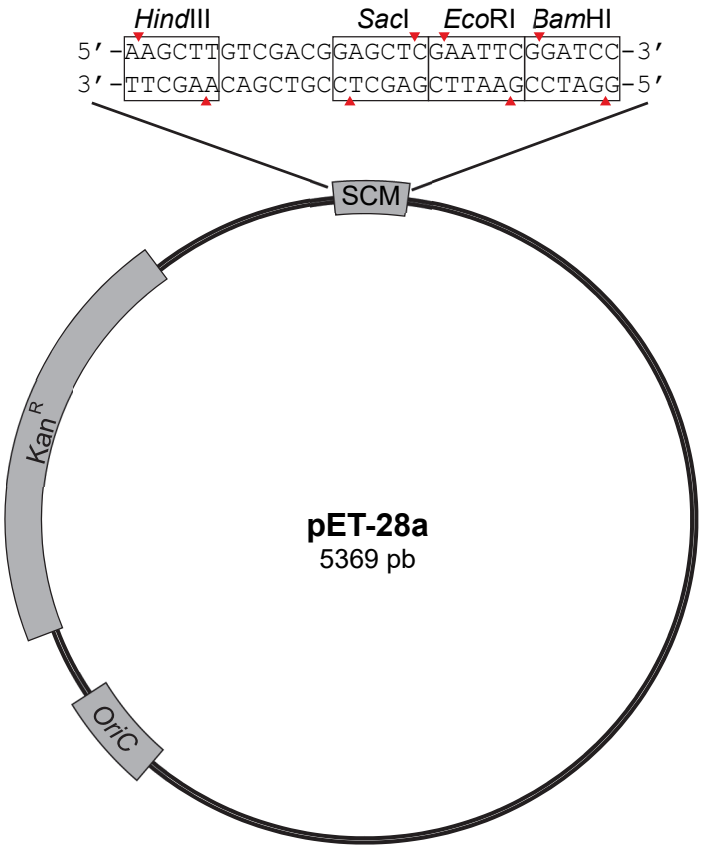
DONNÉES :

D : atténuance lue à 560 nm

$$\mu_{expo} = \frac{\ln D_2 - \ln D_1}{t_2 - t_1} \qquad G = \frac{\ln 2}{\mu_{expo}}$$

DOCUMENT 3 : Construction d'un plasmide recombinant

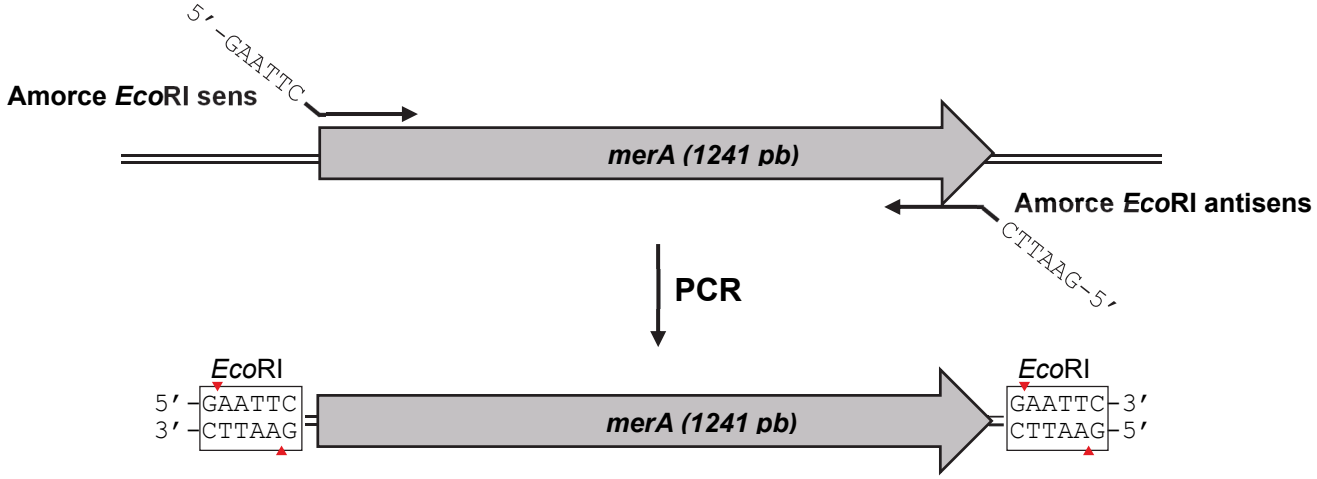
Représentation schématique du vecteur d'expression pET-28a



Ce plasmide comporte :

- **OriC** : origine de réplication
- **Kan^R** : gène de résistance à l'antibiotique kanamycine
- **SCM** : site de clonage multiple contenant les sites de restriction palindromiques des enzymes *Hind*III, *Sac*I, *Eco*RI *et Bam*HI

Représentation schématique de l'obtention des amplicons du gène *merA* par PCR



La séquence du gène *merA* contient les sites de restriction de *Hind*III, *Sac*I et *Bam*HI mais pas celui de *Eco*RI.

DOCUMENT 4 : Principe et protocole expérimental d'une PCR sur colonie et résultats expérimentaux obtenus

Principe

La PCR sur colonie est une méthode rapide permettant d'amplifier un fragment d'ADN directement à partir d'une colonie bactérienne, sans avoir à extraire préalablement son ADN. Cette technique est particulièrement utile pour identifier rapidement des clones d'intérêt après transformation bactérienne.

Protocole expérimental

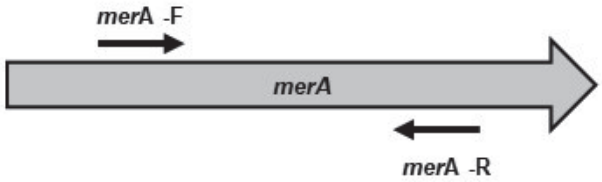
Pour tester la présence du plasmide recombinant dans les bactéries transformées, un couple d'amorces s'hybridant au gène *merA* est utilisé. Il permet la production par PCR d'un amplicon de 741 pb.

Quatre colonies obtenues sur boite après la transformation sont remises en suspension dans 200 µL d'eau. À chaque suspension bactérienne est ensuite ajouté un mélange réactionnel contenant :

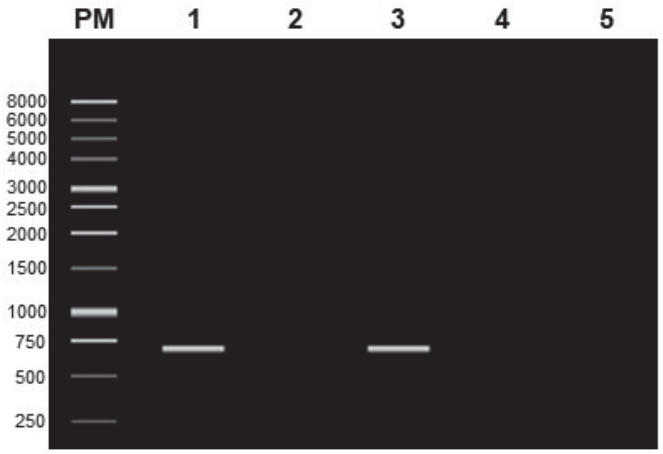
- des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) permettant la synthèse d'ADN ;
- une ADN polymérase thermostable ;
- un tampon contenant les co-facteurs nécessaires à l'activité de l'ADN polymérase ;
- les amorces *merA-F* et *merA-R.*

Un contrôle est également effectué avec le mélange réactionnel sans suspension bactérienne.

Une PCR, dont les conditions expérimentales sont adaptées aux caractéristiques des deux amorces et du gène *mer*A, est effectuée.



Résultats obtenus : Électrophorégramme obtenu après la migration des produits de PCR.



PM : marqueur de taille en paires de base (pb)

1,2,3,4 : produits d'amplification de PCR obtenus à partir de quatre colonies numérotées respectivement de 1 à 4

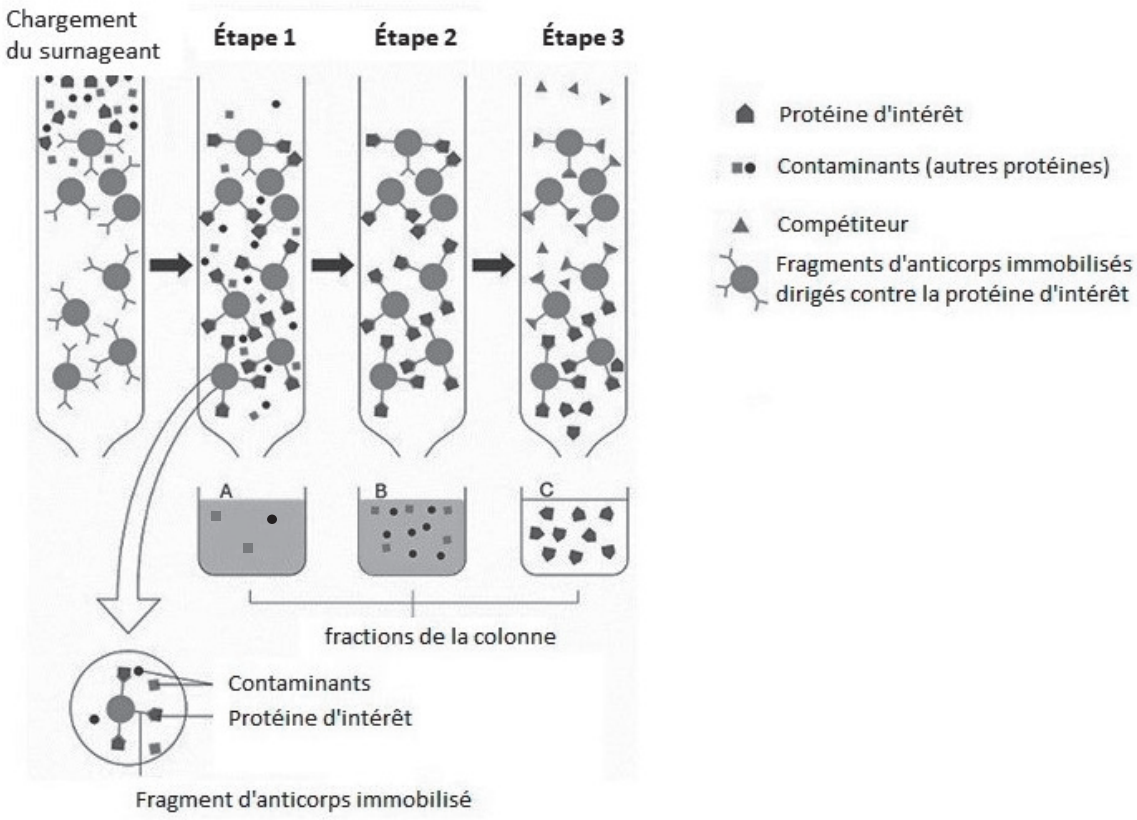
5 : contrôle

DOCUMENT 5 : Purification de la mercure-réductase recombinante par chromatographie d'affinité

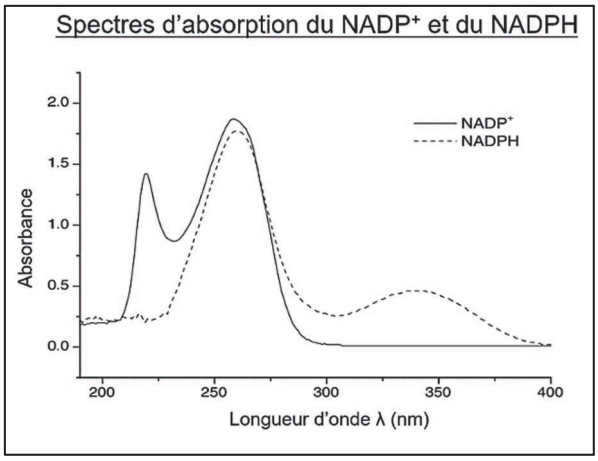
La chromatographie d'affinité est une méthode de séparation des molécules reposant sur une interaction de liaison spécifique entre une molécule à purifier et un ligand immobilisé auquel elle peut se fixer. Si ce ligand est un anticorps, on parle d'immunochromatographie.

L'extraction de la mercure-réductase produite par *E.coli* nécessite, au préalable, une lyse bactérienne suivie d'une centrifugation. Le surnageant obtenu contient la molécule d'intérêt. La purification de la mercure-réductase à partir du surnageant est réalisée en trois étapes présentées dans le schéma suivant.

Étapes de purification par immunochromatographie
Schéma modifié à partir de Louis Tessier, Technologies des bioprocédés industriels, 2e édition



DOCUMENT 6 : Détermination de la vitesse initiale enzymatique de la mercure-réductase produite par *E.coli*



Principe

L'activité de la mercure-réductase est mesurée par méthode cinétique. La réduction de l'ion mercure catalysée par cette enzyme est accompagnée de l'oxydation d'un co-enzyme, le NADPH. La réaction est la suivante :

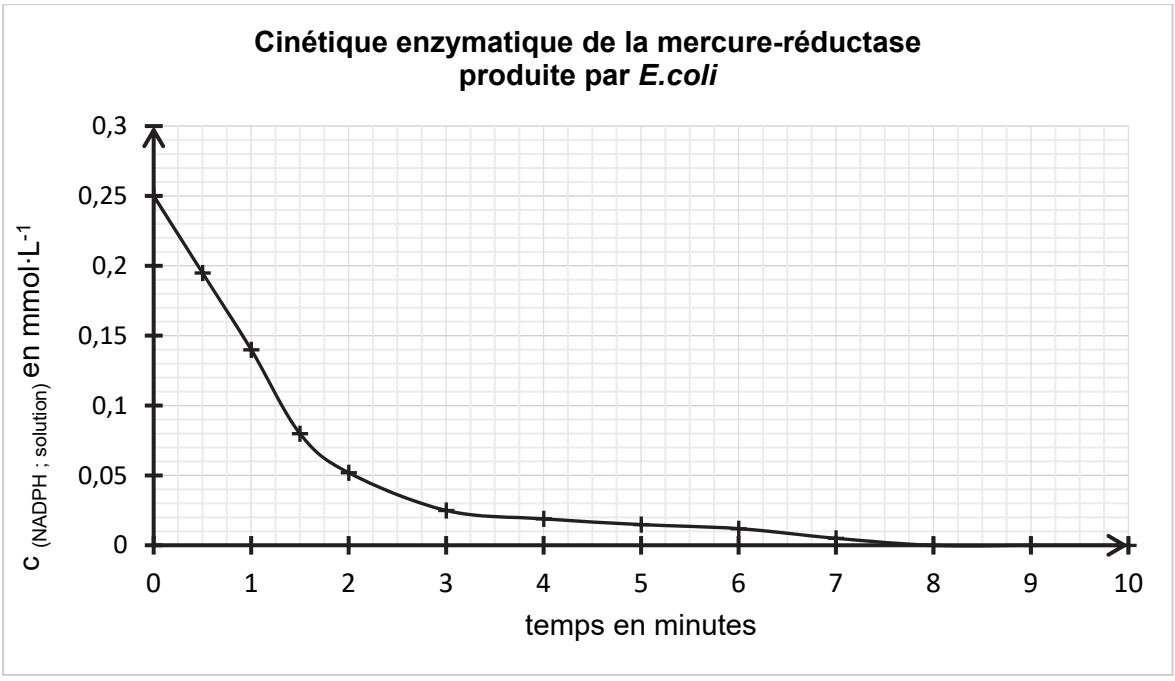
$Hg^{2+} + NADPH \rightarrow Hg^0 + NADP^+ + H^+$

Cette réaction est suivie par spectrophotométrie à 340 nm.

Procédure opératoire

Réactifs	Volume pour la cuve essai
Chlorure de mercure ($HgCl_2$) à 1,0 mmol·L^{-1}	1,5 mL
Tampon phosphate 50 mmol·L^{-1}, pH = 7,35	0,5 mL
NADPH à 55 mmol·L^{-1}	10 µL
Préincuber à 37 °C pendant 10 minutes	
Déclencher la réaction par ajout de mercure-réductase	
Fraction contenant la mercure-réductase	0,2 mL
Lire les absorbances à 340 nm toutes les 30 secondes pendant 10 minutes	

Les absorbances mesurées sont converties en concentrations de NADPH utilisées pour le tracé de la cinétique.



Équation aux grandeurs : $v_i = |\frac{\Delta c}{\Delta t}| = |\frac{c_2 - c_1}{t_2 - t_1}|$

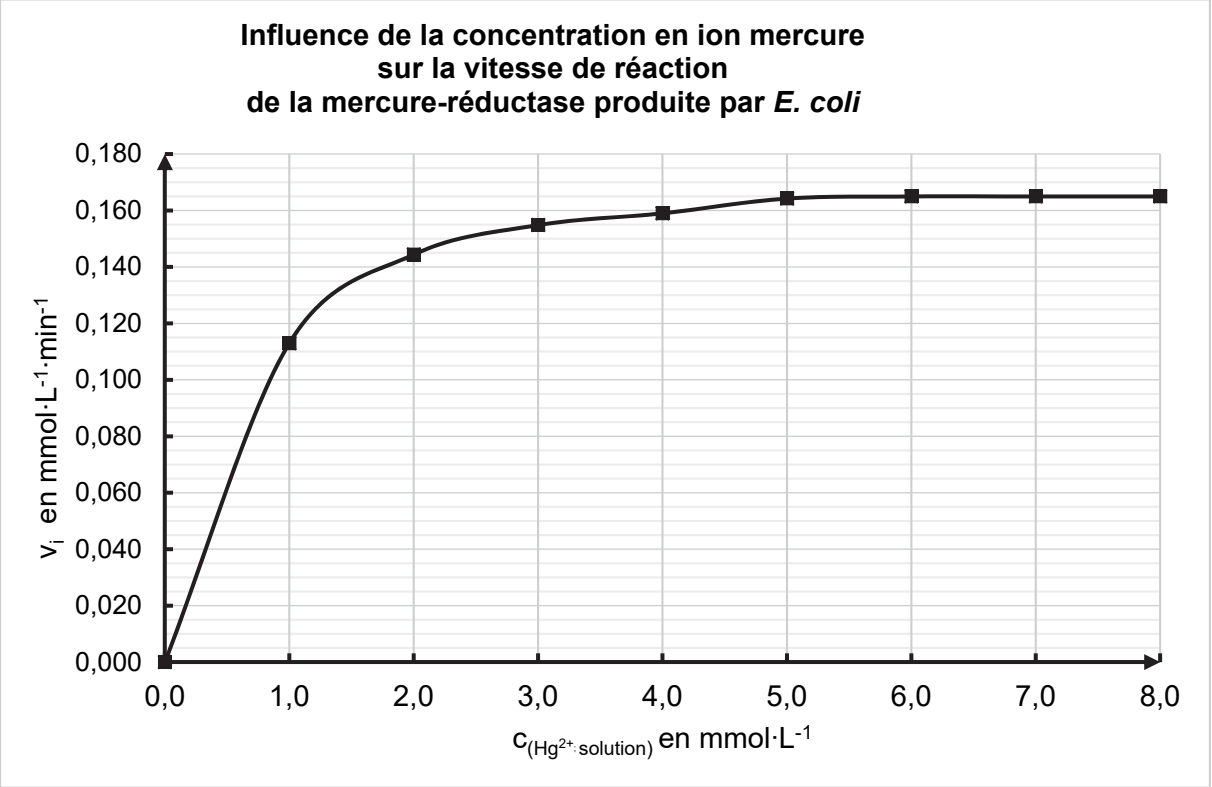
v_i est la vitesse initiale de la réaction enzymatique (en mmol·L^{-1}·min^{-1})

Δc est la variation de concentration en NADPH durant la période initiale (en mmol·L^{-1})

Δt est la variation du temps durant la période initiale (en min)

DOCUMENT 7 : Effet de la concentration en ions mercure sur l'activité enzymatique de la mercure-réductase

Adapté de Giovanella et coll. New Biotechnology, 2016



DOCUMENT 8 : La bioremédiation des métaux lourds

Mycoremédiation et phytoremédiation assistées

D'après *GEO avec AFP, Dépolluer les sols à l'aide de plantes et de champignons : quand Los Angeles teste la bioremédiation, 31 mai 2023.*

En Europe, les travaux sur les champignons dépollueurs sont rares, la majorité des chercheurs se concentrant sur les bactéries. Pourtant, au Canada et aux États-Unis d'Amérique, les champignons sont utilisés depuis une quarantaine d'années.

Le projet de scientifiques californiens consiste à disséminer des plantes et des champignons savamment choisis afin d'éliminer naturellement les métaux lourds. En six mois, les chercheurs se sont rapprochés de 50 % de taux d'élimination pour certains métaux.

Certaines plantes jouent le rôle de fixateurs de métaux lourds. Pour survivre en terre hostile, elles reçoivent l'aide de champignons mycorhiziens qui leur apportent de l'eau et des nutriments.

Dépollution et valorisation des métaux lourds

Adapté de : Claude Grison, bon génie de la chimie verte, CNRS, Le journal, 16 février 2024.

Une équipe de recherche française a développé des méthodes pour décontaminer les sols et l'eau grâce à des plantes métallo-résistantes. Celles-ci sont capables d'extraire les métaux lourds par les racines puis de les accumuler dans leurs feuilles.

L'utilisation de ces plantes pour dépolluer des friches minières était jusque lors contre-indiquée. En effet, les risques écologiques pour la faune herbivore environnante et, par extension, pour l'ensemble de la chaîne alimentaire, y compris les êtres humains, représentent les principales limites d'application.

Ces métaux bioaccumulés peuvent aujourd'hui être réutilisés selon une méthode brevetée : « l'éco-catalyse® ». Les feuilles de la plante sont réduites en une poudre utilisée comme catalyseur. Ces catalyseurs sont nécessaires pour la synthèse de molécules d'intérêt pharmaceutique, industriel ou cosmétique. Cette valorisation aide à durabiliser les efforts de décontamination des sites et constitue une économie circulaire des polluants recyclés.

Une approche basée sur la métaremédiation

D'après : Saggaï M.M. et coll. Traitement des eaux usées en zones humides artificielles : vers une sélection des espèces végétales adaptées pour la métaremédiation, CNRS Écologie & Environnement, 12 octobre 2017.

Compte-tenu du fonctionnement de l'ensemble des écosystèmes impliqués dans la décontamination des eaux usées, les données accumulées jusqu'à présent montrent que les plantes adaptées aux écosystèmes contaminés influencent profondément le microbiome[1] associé à la rhizosphère[2]. Des données récentes suggèrent que l'action conjointe d'associations de plantes, de champignons et de bactéries entraîne une dégradation rapide et efficace des molécules complexes. Ainsi, la métaremédiation se pose aujourd'hui comme une potentielle stratégie d'assainissement des milieux pollués. Par conséquent, dans les écosystèmes naturels, la remédiation biologique doit être évaluée au niveau d'un ensemble d'organismes.

[1] : Ensemble des espèces microbiennes présentes dans un environnement.

[2] : Partie du sol proche des racines des plantes, très riche en micro-organismes et en substances biologiques.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

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.