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-TL3BPO1** • Durée : **3 heures**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. **Production d'EPO recombinante et détection de son détournement sportif** (19 questions) — **Page 3**

2. **Évolution des méthodes de production des biomédicaments** (1 question) — **Page 10**

3. **Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ)** (Synthèse & Q&A Examen) — **Page 11**

Sujet officiel (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2025/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2025 - 3-Sujet.pdf

1. Production d’EPO recombinante et détection de son détournement sportif

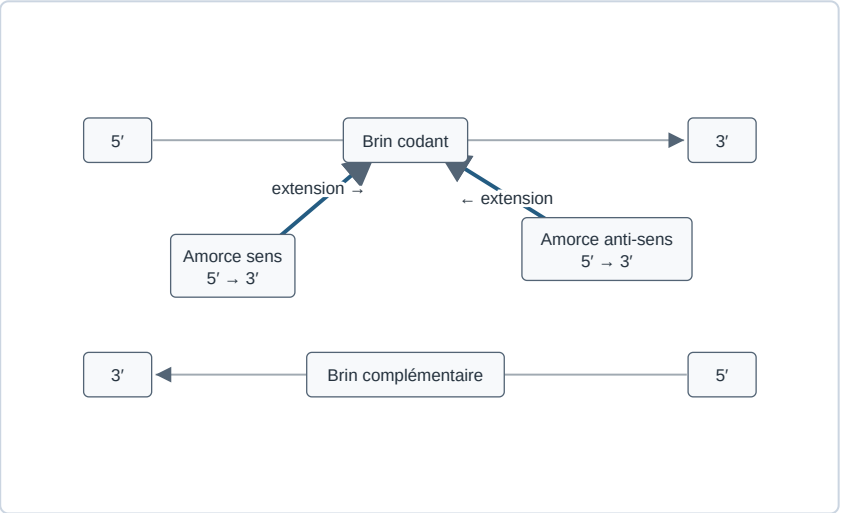
Le sujet étudie la production d’EPO recombinante humaine, de l’amplification de sa séquence codante à son expression dans des cellules CHO, ainsi que les effets d’injections d’EPO sur les érythrocytes et la VO2 max. Il examine ensuite le dosage d’EPO dans un échantillon urinaire par ELISA et la caractérisation des isoformes par focalisation isoélectrique pour rechercher une origine recombinante.

1.1. Amplification de la séquence codante

Question Q1. Représenter, à l’aide d’un schéma simplifié, les deux brins d’ADN orientés en indiquant les positions et les orientations des amorces sens et anti-sens utilisées pour l’amplification.

Les deux brins sont antiparallèles. L’amorce sens s’hybride au début de la séquence codante, sur le brin complémentaire, et son extrémité 3′ pointe vers la région à amplifier. L’amorce anti-sens s’hybride à l’autre extrémité, sur le brin codant, avec son extrémité 3′ orientée vers l’intérieur. Les deux amorces encadrent ainsi le fragment et permettent son amplification.

Orientation des brins et des amorces de PCR



Les amorces s’hybrident sur des brins opposés ; leurs extrémités 3′ sont orientées vers le fragment à amplifier.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Amorce sens à gauche, extension vers la droite ; amorce anti-sens à droite, extension vers la gauche.

Question Q2. Calculer la température de fusion de l’amorce sens à l’aide de sa séquence et de la formule de Wallace.

Dans l’amorce sens 5′ ATGGGGGTGCGCGTCCCAC 3′, on compte 2 A, 3 T, 6 C et 8 G. Avec la formule de Wallace, la température de fusion vaut :

$$T_m = 2(n_A + n_T) + 4(n_C + n_G) = 2(2+3) + 4(6+8) = 66\ ^\circ\mathrm{C}.$$

✓ RÉPONSE À RETENIR

Température de fusion : 66 °C.

Question Q3. Proposer une température d'hybridation pour la PCR en présentant la démarche mise en œuvre.

Pour l'amorce sens, $T_h = T_m - 5 = 66 - 5 = 61\ ^\circ\mathrm{C}$. Pour l'amorce anti-sens, le document donne aussi $T_m = 66\ ^\circ\mathrm{C}$, donc $T_h = 66 - 5 = 61\ ^\circ\mathrm{C}$. L'écart entre les deux températures d'hybridation est nul, donc inférieur à la limite de 2 °C. Une température commune de 61 °C convient à la PCR.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Température d'hybridation proposée : 61 °C.

Question Q4. Analyser les résultats obtenus pour les puits 2 et 3 afin de conclure sur l'efficacité de l'amplification.

Le puits 2, contrôle sans ADN, ne présente aucune bande : il n'y a pas d'amplification parasite détectable. Dans le puits 3, une bande unique migre près du repère 750 pb, ce qui est cohérent avec la taille attendue de 742 pb. Le contrôle négatif et la taille du produit observé permettent donc de conclure à une amplification spécifique du fragment attendu.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Amplification spécifique : une bande proche de 742 pb au puits 3, aucune bande au contrôle du puits 2.

1.2. Clonage des produits d'amplification

Question Q5. Identifier trois caractéristiques du plasmide pcDNA3.1+ qui en font un vecteur adapté au clonage de la séquence codante de l'EPO humaine.

Le MCS contient des sites de restriction qui permettent d'insérer le fragment EPO après digestion puis ligation. Le promoteur CMV, placé en amont du MCS, assure une forte expression du gène inséré dans des cellules de mammifères, notamment les CHO. Enfin, le gène NeoR confère une résistance à la néomycine et permet de sélectionner les cellules transfectées. Ces trois caractéristiques répondent aux besoins du clonage et de l'expression de l'EPO.

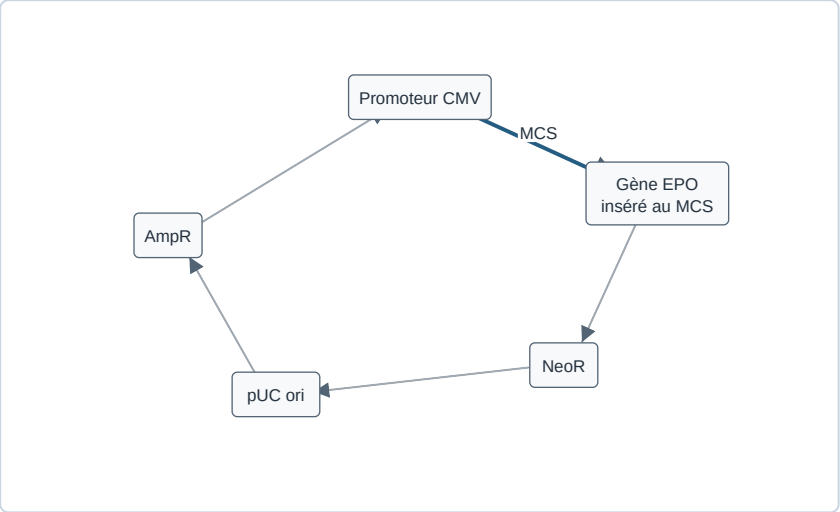
✓ RÉPONSE À RETENIR

MCS pour insérer EPO, promoteur CMV pour son expression, NeoR pour sélectionner les cellules transfectées.

Question Q6. Schématiser et légender le plasmide recombiné sur la copie.

Le plasmide recombiné conserve les éléments du vecteur pcDNA3.1+. Le gène codant l'EPO est inséré dans le MCS, en aval du promoteur CMV, afin d'être exprimé dans les cellules CHO. Le plasmide conserve également NeoR, AmpR et l'origine de réplication pUC ori. Le schéma représente l'organisation circulaire de façon fonctionnelle, sans respecter les proportions.

Plasmide pcDNA3.1+ recombiné



Organisation circulaire fonctionnelle, non à l'échelle ; l'insertion EPO est placée dans le MCS en aval du promoteur CMV.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Gène EPO inséré dans le MCS, en aval du promoteur CMV ; les autres éléments du plasmide sont conservés.

Question Q7. Calculer la taille approximative du plasmide recombiné en paires de bases.

Le document 3 indique que le vecteur pcDNA3.1+ mesure 5,4 kb, soit 5 400 pb. Le fragment d'amplification inséré mesure 742 pb. En négligeant la courte portion du MCS retirée lors de la digestion, la taille du plasmide recombiné est donc approximativement $5\,400 + 742 = 6\,142$ pb.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Taille approximative : 6 142 pb, soit 6,14 kb.

1.3. Production par culture de cellules de mammifères

Question Q8. Expliquer l'intérêt d'ajouter de la néomycine au milieu de culture.

Le plasmide recombiné porte le gène NeoR, qui confère une résistance à la néomycine. Comme les cellules CHO non transfectées y sont sensibles, l'antibiotique empêche leur survie ou leur multiplication. Les cellules ayant reçu le plasmide sont sélectionnées et peuvent être cultivées pour produire l'EPO. La néomycine sert donc à sélectionner les cellules transfectées, et non à déclencher directement la production de la protéine.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La néomycine sélectionne les cellules CHO transfectées, résistantes grâce au gène NeoR.

Question Q9. Récapituler de manière chronologique l'ensemble du processus de production de l'EPO recombinante humaine à partir de l'amplification de la séquence codante de l'EPO.

Le procédé suit les étapes du clonage puis de l'expression en cellules de mammifères :

1. Amplifier par PCR la séquence codante de l'EPO et vérifier le produit.
2. Digérer le fragment et pcDNA3.1+ avec des enzymes du MCS, puis les ligaturer.
3. Transformer des bactéries sensibles à l'ampicilline, sélectionner les bactéries résistantes et multiplier le plasmide recombiné en présence d'ampicilline.
4. Extraire et purifier le plasmide, puis transfecter les cellules CHO.
5. Sélectionner les CHO transfectées avec la néomycine et les cultiver pour produire la rh-EPO.

✓ RÉPONSE À RETENIR

PCR, clonage et multiplication bactérienne, purification du plasmide, transfection et sélection des CHO, puis production de rh-EPO.

1.4. Effets de l'injection d'EPO

Question Q10. Calculer la concentration sanguine d'érythrocytes à 28 jours.

Au jour 28, le graphique indique une variation d'environ +10 % de la concentration par rapport au jour 0. La concentration initiale étant $4{,}5 \times 10^{12}$ érythrocytes·L⁻¹, on obtient :

$C_{28} = 4{,}5 \times 10^{12} \times (1 + 10/100) = 4{,}95 \times 10^{12}$ érythrocytes·L⁻¹.

La valeur est approximative, car la variation est lue sur le graphique.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Au jour 28 : environ $4{,}95 \times 10^{12}$ érythrocytes·L⁻¹.

Question Q11. Analyser l'évolution de la concentration en érythrocytes pendant les injections et après leur arrêt afin de proposer un rôle de l'EPO sur les érythrocytes.

Pendant les injections quotidiennes, la variation de la concentration en érythrocytes augmente et atteint environ +10 % au jour 28. Après l'arrêt des injections, elle diminue progressivement, tout en restant supérieure à la valeur initiale au dernier point mesuré. Cette évolution concorde avec le rôle de l'EPO : elle stimule la production d'érythrocytes, puis cet effet s'atténue lorsque les injections cessent.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'EPO stimule la production d'érythrocytes ; leur concentration augmente pendant les injections puis diminue après leur arrêt.

Question Q12. Analyser l'évolution de la VO2 max afin d'expliquer l'intérêt que pourraient représenter des injections d'EPO pour la performance sportive.

La VO_2 max augmente pendant les injections, de 0 % au départ à environ +5 % au jour 28. Elle continue de croître après leur arrêt, atteint environ +7,5 % vers le jour 42, puis diminue. Une VO_2 max plus élevée traduit une capacité accrue à consommer du dioxygène pendant l'effort. Avec davantage d'érythrocytes, le transport d'oxygène vers les muscles peut augmenter, ce qui favorise l'endurance.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les injections peuvent accroître temporairement la VO_2 max et favoriser l'endurance par un meilleur apport de dioxygène aux muscles.

2.1. Dosage de l'EPO par la méthode ELISA

Question Q13. Expliquer en quoi les étapes de lavage sont un point critique de la technique ELISA.

Les lavages éliminent les molécules qui ne sont pas spécifiquement fixées dans le puits. S'ils sont insuffisants, des anticorps marqués libres restent présents : leur HRP transforme le TMB et crée un signal parasite, augmentant artificiellement l'absorbance. À l'inverse, des lavages trop vigoureux peuvent détacher les complexes spécifiques et diminuer le signal. La rigueur des lavages conditionne donc la fiabilité du dosage ELISA.

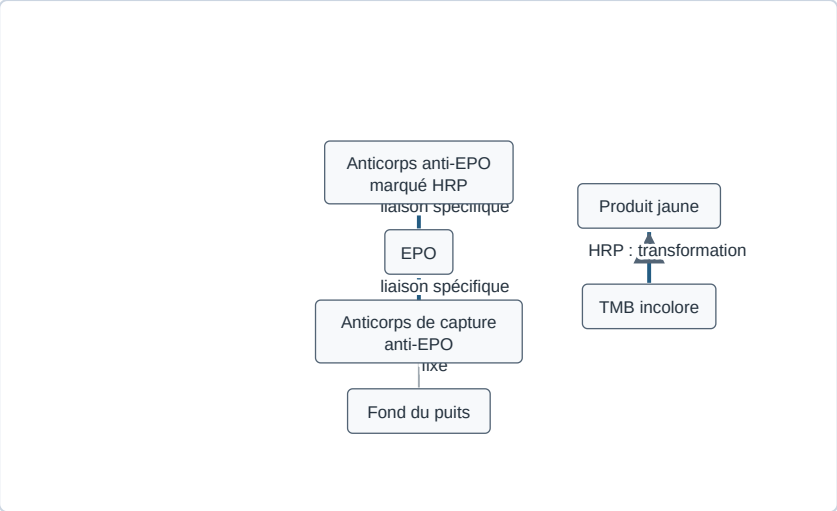
✓ RÉPONSE À RETENIR

Les lavages éliminent les réactifs non liés, limitent les faux signaux et préservent les complexes spécifiques.

Question Q14. Représenter l'édifice moléculaire obtenu au fond du puits à la fin de la procédure expérimentale dans le cas où l'échantillon testé contient de l'EPO. Préciser la couleur obtenue.

En présence d'EPO, l'anticorps de capture fixé au fond du puits retient l'EPO. L'anticorps anti-EPO marqué par la HRP se fixe ensuite à l'EPO : le complexe forme un sandwich. Après lavage, la HRP transforme le TMB incolore en produit coloré jaune. La couleur est observée dans la solution du puits et son absorbance est mesurée à 450 nm.

Complexe en sandwich du test ELISA



L'anticorps détecteur porte la HRP ; l'enzyme transforme le TMB en produit jaune.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Fond du puits - anticorps de capture - EPO - anticorps anti-EPO-HRP ; produit coloré jaune.

Question Q15. Calculer la concentration en EPO dans l'échantillon urinaire du sportif testé.

La droite d'étalonnage est $A = 0{,}0117C - 0{,}0294$. Pour l'échantillon, $A = 0{,}508$, donc :

$C = (0{,}508 + 0{,}0294)/0{,}0117 \approx 45{,}9$ mUI·mL⁻¹.

Cette concentration est supérieure au seuil de 30 mUI·mL⁻¹ signalé comme suspect. L'ELISA indique une concentration élevée, mais ne permet pas à lui seul d'établir l'origine de l'EPO.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Concentration urinaire en EPO : environ 45,9 mUI·mL⁻¹.

Question Q16. Argumenter la nécessité de poursuivre l'analyse de l'échantillon par la technique de focalisation isoélectrique (FIE).

L'ELISA mesure la concentration d'EPO, mais ne distingue pas l'EPO endogène de l'EPO recombinante. La valeur calculée, environ 45,9 mUI·mL⁻¹, dépasse le seuil de suspicion de 30 mUI·mL⁻¹ : une analyse complémentaire est donc justifiée, sans que l'ELISA prouve à lui seul un dopage. La FIE sépare les isoformes selon leur pHi et permet de comparer leur profil à ceux des EPO endogène et recombinante.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Concentration suspecte et origine indéterminée par ELISA : la FIE est nécessaire pour caractériser les isoformes.

2.2. Poursuite de l’analyse par focalisation isoélectrique

Question Q17. Estimer le pHi de l’isoforme A majoritaire de l’EPO endogène et le pHi de l’isoforme B majoritaire de l’EPO recombinante.

Sur le document 6, l’échelle va de pH 2 en bas à pH 6 en haut. La bande majoritaire A de l’EPO endogène se situe autour de pH 3,5. La bande majoritaire B de l’EPO recombinante se trouve entre pH 4 et 5, proche de 4,7. Ces pHi sont estimés par la position des bandes sur l’échelle et ne sont donc pas des mesures exactes.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Isoforme A endogène : pHi ≈ 3,5 ; isoforme B recombinante : pHi ≈ 4,7.

Question Q18. Expliquer le sens de migration à partir de la ligne de dépôt d’une isoforme de l’EPO dont le pHi est de 5.

La ligne de dépôt correspond à pH 4. À cet endroit, le pH du support est inférieur au pHi 5 de l’isoforme : sa charge globale est donc positive. Elle migre vers la cathode, de charge négative, dans le sens des pH croissants. Lorsqu’elle atteint la zone de pH 5, sa charge globale devient nulle et elle s’immobilise.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Vers la cathode, en direction des pH croissants, puis immobilisation à pH 5.

Question Q19. Analyser les résultats obtenus pour l’échantillon testé afin de conclure sur l’origine endogène ou recombinante de l’EPO chez ce sportif.

Le profil de l’échantillon présente plusieurs bandes dans la zone des pH élevés, correspondant au profil de l’EPO recombinante du document. Il diffère du profil endogène, dont les bandes majoritaires se situent à des pH plus faibles. L’échantillon contient donc une EPO dont le profil est compatible avec une origine recombinante et un apport exogène. La conclusion porte sur la compatibilité du profil, et non sur une preuve isolée du dopage.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le profil de l’échantillon est compatible avec la présence d’EPO recombinante d’origine exogène.

2. Évolution des méthodes de production des biomédicaments

Les documents présentent les risques associés à l'extraction de protéines thérapeutiques à partir de tissus ou de fluides biologiques, puis l'évolution vers leur production par biotechnologies. Ils décrivent les étapes et contraintes des bioproductions actuelles, ainsi que les obstacles liés à leur complexité et à la dépendance envers des fournisseurs internationaux.

Question de synthèse

Question Q20. Montrer en quoi les méthodologies de production de biomédicaments ont évolué et préciser les obstacles que peuvent rencontrer les sociétés de biotechnologies.

Les premières protéines thérapeutiques étaient extraites de tissus ou de fluides biologiques humains. Cette méthode comportait un risque infectieux : l'hormone de croissance extraite d'hypophyses contaminées a entraîné plus de 800 cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob entre 1983 et 1985, dont 115 décès. Dès les années 1980, les progrès en génétique et en biotechnologie ont permis la production de protéines thérapeutiques, notamment l'insuline autorisée en 1982.

Aujourd'hui, des cellules vivantes produisent la molécule d'intérêt en bioréacteur, dans un milieu stérile et contrôlé. La récolte est suivie de purification, filtration, inactivation virale et contrôles qualité.

- Procédés complexes, variables et difficiles à paramétrer.
- Réglementation stricte et production de 5 à 21 jours.
- Dépendance aux fournisseurs internationaux pour les équipements et matières premières, dont les plasmides.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> De l'extraction biologique risquée, la production a évolué vers la bioproduction par cellules vivantes. Les obstacles sont la complexité, la variabilité, les exigences réglementaires et la dépendance aux fournisseurs internationaux.

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

Bilan de l'épreuve : Épreuve de spécialité Biochimie, Biologie et Biotechnologies du baccalauréat technologique STL, session 2025, code 25-TL3BPO1, d'une durée de 3 heures, sans coefficient imprimé. Consacrée à l'EPO, elle évalue la PCR, le clonage et l'expression d'une protéine recombinante, l'analyse de données biologiques, les méthodes ELISA et FIE, ainsi que la synthèse sur l'évolution et les contraintes des bioproductions.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Formule de Wallace : Tm = 2 × (nA + nT) + 4 × (nC + nG) ; la température d'hybridation est Tm - 5 °C.
- Un vecteur d'expression adapté associe notamment une origine de réplication, des marqueurs de sélection, un site de clonage et un promoteur adapté aux cellules hôtes.
- En ELISA, l'EPO est retenue entre deux anticorps ; l'HRP transforme le TMB incolore en produit coloré mesurable à 450 nm.
- En FIE, une protéine migre jusqu'à la zone où le pH égale son pHi ; sa charge globale devient alors nulle et elle s'immobilise.

Points de vigilance & attentes du jury

- Pour la PCR, orienter les brins et les amorces, puis vérifier que l'écart entre les températures d'hybridation ne dépasse pas 2 °C.
- Sur le gel, distinguer le témoin sans ADN du produit amplifié et confronter la bande observée à la taille attendue de 742 pb.
- Pour les calculs graphiques, relever les données et unités, écrire la relation utilisée et vérifier la cohérence du résultat.
- En FIE, interpréter les bandes selon le gradient de pH et comparer les résultats de l'échantillon aux profils témoins.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment choisir une température d'hybridation pour la PCR ?

Calculez la température de fusion de chaque amorce, puis soustrayez 5 °C pour obtenir sa température d'hybridation. Choisissez une température compatible avec les deux amorces et vérifiez que leurs températures d'hybridation diffèrent de 2 °C au maximum.

Q : Comment déterminer la concentration d'EPO à partir de la courbe ELISA ?

Dans l'équation de la droite d'étalonnage, remplacez l'absorbance par celle mesurée pour l'échantillon et isolez la concentration. Exprimez le résultat dans l'unité de la courbe, puis comparez-le aux valeurs physiologiques et au seuil de suspicion indiqués.

Q : Comment répartir le temps entre les deux parties de l'épreuve ?

Le sujet indique une durée indicative de 2 h 30 pour le questionnement scientifique et technologique, puis 30 minutes pour la synthèse. Réservez ce temps à la synthèse et gardez quelques minutes pour vérifier les calculs, les unités et la lisibilité des schémas.

Q : Quels éléments sont attendus dans les analyses et les schémas ?

Une analyse doit citer des données précises, les interpréter et formuler une conclusion en lien avec la question. Un schéma doit être lisible, orienté et légendé. Le sujet présente une pondération par compétences, mais aucun barème détaillé par question.

Sujet officiel associé (PDF) : https://bacstl.fr/assets/annales/bac-stl/Biochimie, biologie et biotechnologies/2025/Bac STL - Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2025 - 3-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.