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

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 11 pages numérotées de 1/11 à 11/11.

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	3 points	5 points	4 points	5 points	1 point

L'EPO : ENTRE INDICATIONS MÉDICALES ET DÉRIVES SPORTIVES

L'érythropoïétine, ou EPO, est une hormone produite naturellement par les reins, qui stimule la production d'érythrocytes. Elle est utilisée comme traitement de certaines anémies causées par une insuffisance rénale. La production industrielle de l'EPO, dont la vente représentait 20 % des biomédicaments en Europe en 2006, soulève des questions de santé publique, à la fois pour son utilisation thérapeutique et son détournement à des fins de dopage chez les sportifs.

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

Ce sujet traite de deux aspects distincts :
- la production de la protéine EPO recombinante humaine (rh-EPO) et son utilisation à des fins thérapeutiques ;
- les méthodes de dosage et de caractérisation de l'EPO chez les sportifs.

1. PRODUCTION D'EPO RECOMBINANTE ET UTILISATION THÉRAPEUTIQUE

Pour répondre à des besoins croissants, l'EPO est produite de manière industrielle par génie génétique depuis 1983.

1.1. Amplification de la séquence codante de l'EPO humaine

Afin de produire de l'EPO recombinante humaine, une amplification de la séquence codante de l'EPO par PCR est réalisée.
Le **document 1** présente un extrait de la séquence codante monobrin de l'EPO et les amorces utilisées pour son amplification.

Q1. (C1) 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.

Q2. (C2) Calculer la température de fusion de l'amorce sens.

Q3. (C4) Proposer une température d'hybridation pour la PCR, en présentant la démarche mise en œuvre.

Le **document 2** présente le résultat obtenu à l'issue de la migration électrophorétique des produits d'amplification par PCR.

Q4. (C3) Analyser les résultats obtenus pour les puits 2 et 3 afin de conclure sur l'efficacité de l'amplification.

1.2. Clonage des produits d'amplification contenant la séquence codante de l'EPO

Le clonage de la séquence codante de l'EPO se déroule en plusieurs étapes :
- choix du plasmide à utiliser ;
- digestion enzymatique des produits d'amplification et du plasmide par des enzymes de restriction du site de multiclonage MCS ;
- ligation des produits d'amplification avec le plasmide dans le site de multiclonage MCS ;
- transformation de bactéries sensibles à l'ampicilline par le plasmide recombiné ;
- production du plasmide recombiné dans une culture bactérienne en présence d'ampicilline.

Le **document 3** présente le plasmide choisi comme vecteur de clonage.

Q5. (C1) Identifier trois caractéristiques du plasmide pcDNA3.1+ qui en font un vecteur adapté au clonage de la séquence codante de l'EPO humaine.

Q6. (C3) Schématiser et légender le plasmide recombiné sur la copie.

Q7. (C2) Calculer la taille approximative du plasmide recombiné en paires de bases.

1.3. Production de l'EPO par des cultures de cellules de mammifères

Le plasmide recombiné est produit dans des bactéries, extrait puis purifié avant d'être introduit par transfection dans des cellules CHO (cellules de hamster chinois) sensibles à la néomycine. La production d'EPO recombinante humaine (rh-EPO) est réalisée en cultivant les cellules transfectées par le plasmide dans un milieu de culture contenant de la néomycine.
Les cellules transfectées par le plasmide recombiné sont cultivées dans un milieu de culture contenant de la néomycine.

Q8. (C3) Expliquer l'intérêt d'ajouter de la néomycine au milieu de culture.

Q9. (C5) 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.

1.4. Effets de l'injection d'EPO chez l'être humain

Le **document 4** met en évidence les effets d'injections répétées d'EPO sur deux paramètres biologiques :

- la variation de la concentration sanguine d'érythrocytes ;
- la variation de la consommation maximale de dioxygène que l'organisme peut consommer lors d'un exercice physique, $V_{O2\ max}$.

Q10. (C2) Calculer la concentration sanguine d'érythrocytes à 28 jours.

Q11. (C3) Analyser l'évolution de la concentration en érythrocytes pendant les injections et après l'arrêt des injections d'EPO pour proposer un rôle de l'EPO sur les érythrocytes.

Q12. (C4) Analyser l'évolution de la $V_{O2\ max}$ afin d'expliquer l'intérêt que pourraient représenter des injections d'EPO pour la performance sportive.

2. DÉTECTION DE L'EPO RECOMBINANTE DANS LE CADRE D'UN CONTRÔLE ANTIDOPAGE

L'EPO recombinante est détournée à des fins illégales pour améliorer les performances physiques de sportifs via des injections régulières. L'EPO est naturellement produite par l'organisme. Il est donc difficile, lors d'un dosage, de faire la différence entre l'EPO endogène et la prise d'EPO d'origine exogène injectée à des fins de dopage. Pour cela, le contrôle des sportifs s'effectue par des techniques de détection variées. En première intention, un dosage de l'EPO est réalisé par la méthode ELISA. Si la concentration en EPO parait suspecte, l'analyse est poursuivie par la technique de focalisation isoélectrique (FIE).

2.1. Dosage de l'EPO par la méthode ELISA

Le document 5 présente le protocole de dosage de l'EPO humaine.

Q13. (C3) Expliquer en quoi les étapes de lavage sont un point critique de la technique ELISA.

Q14. (C3) 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.

Q15. (C2) Calculer la concentration en EPO dans l'échantillon urinaire du sportif testé.

Q16. (C4) Argumenter la nécessité de poursuivre l'analyse de l'échantillon par la technique FIE.

2.2. Poursuite de l'analyse de l'échantillon

L'expression du gène de l'EPO conduit à la production d'une protéine qui subit, *in vivo*, de nombreuses modifications pour être fonctionnelle. Une des principales modifications consiste en l'ajout d'un nombre variable de chaînes sialiques chargées négativement, amenant à l'obtention de diverses formes d'EPO appelées isoformes.
Pour distinguer les différentes isoformes de l'EPO endogène de celles de l'EPO recombinante, une FIE est mise en œuvre sur les échantillons suspects. Les isoformes d'EPO ne possédant pas la même charge migrent différemment sur le support.

Le **document 6** présente le principe et les résultats obtenus avec cette technique sur un échantillon d'urine provenant d'un sportif.

Q17. (C1) Estimer le pHi de l'isoforme A majoritaire de l'EPO endogène et le pHi de l'isoforme B majoritaire de l'EPO recombinante.

Q18. (C4) Expliquer le sens de migration à partir de la ligne de dépôt d'une isoforme de l'EPO dont le pHi est de 5.

Q19. (C3) Analyser les résultats obtenus pour l'échantillon testé afin de conclure sur l'origine endogène ou recombinante de l'EPO chez ce sportif.

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

Les biomédicaments sont une gamme de médicaments dont la particularité est d'être produits à partir d'une source biologique vivante telles que des cellules eucaryotes, des bactéries ou des tissus vivants. Les modes d'obtention de ces biomédicaments ont beaucoup évolué ces 30 dernières années.
Le **document 7** présente cette évolution depuis la survenue d'un scandale sanitaire de la fin du XX^{ème} siecle jusqu'aux modes de production actuels.

Q20. (C5) Montrer en quoi les méthodologies de production de biomédicaments ont évolué et préciser les obstacles que peuvent rencontrer les sociétés de biotechnologies.

DOCUMENT 1 : Séquences des amorces et extrait de la séquence du gène codant l'EPO

Séquences des amorces		
Couple d'amorces choisi	Amorce anti-sens	5' CCACCGCCATCCGCCCGC 3'
	Amorce sens	5' ATGGGGGTGCGCGTCCCAC 3'

Formule de Wallace : $T_m = 2 \times (n_A + n_T) + 4 \times (n_C + n_G)$

n_A : nombre de nucléotides « A » dans la séquence
n_T : nombre de nucléotides « T » dans la séquence
n_C : nombre de nucléotides « C » dans la séquence
n_G : nombre de nucléotides « G » dans la séquence

T_m : température de fusion

Donnée : $\mathbf{T_{m(amorce\ anti\text{-}sens)}}$ = 66 °C

Formule pour le calcul de la température d'hybridation (T_h) d'une amorce (en °C) :

$$\mathbf{T_h = T_m - 5\ °C}$$

Les deux amorces doivent avoir une température d'hybridation proche : l'écart entre les deux températures d'hybridation doit être inférieur ou égal à 2 °C.

Extrait de la séquence codante monobrin de l'EPO

5' […] ATGGGGGTGC GCGTCCCACG GGCCCTGCTC TGGGGCAGCG ACAGGGCCAG

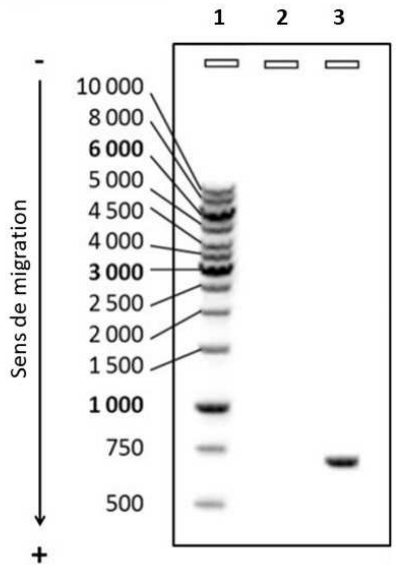
GTCAGGGCAC TGCCGCTGAC CCCCGCAGGG ACCGCGGGCG TCGGGGCTCG GGGCTCGCGG

CGCAG […] GGCCAAGCTC TGACGCAGCG TGCCGCTTAC ACACCCCCAG GCAAAGGCGG

GCGGGCGGGC CGGGCGGCGG CGGCGGGCGG ATGGCGGTGG […] **3'**

La position d'hybridation des amorces choisies figure en grisé sur la séquence.

DOCUMENT 2 : Résultat de l'électrophorèse des produits d'amplification par PCR

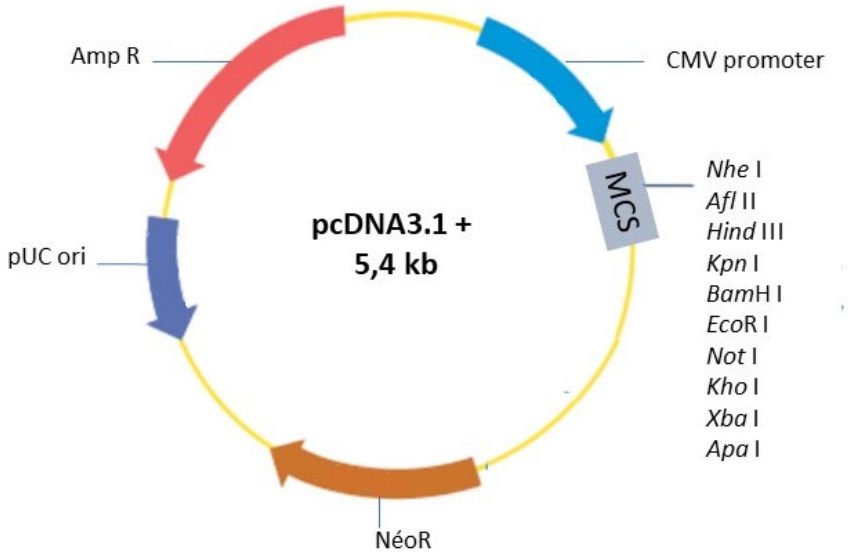


Puits 1 : Marqueur de taille en paires de bases
Puits 2 : Contrôle de spécificité (amplification sans ADN)
Puits 3 : Produits d'amplification contenant la séquence codante de l'EPO

Donnée : le produit d'amplification attendu a une longueur de 742 paires de bases.

DOCUMENT 3 : Plasmide pcDNA3.1+ utilisé pour la production d'EPO recombinante humaine

Source : GenScript.com, consulté le 29/11/2024



<u>Légende</u> :

pUC ori : origine de réplication du plasmide

AmpR : gène de résistance à l'ampicilline

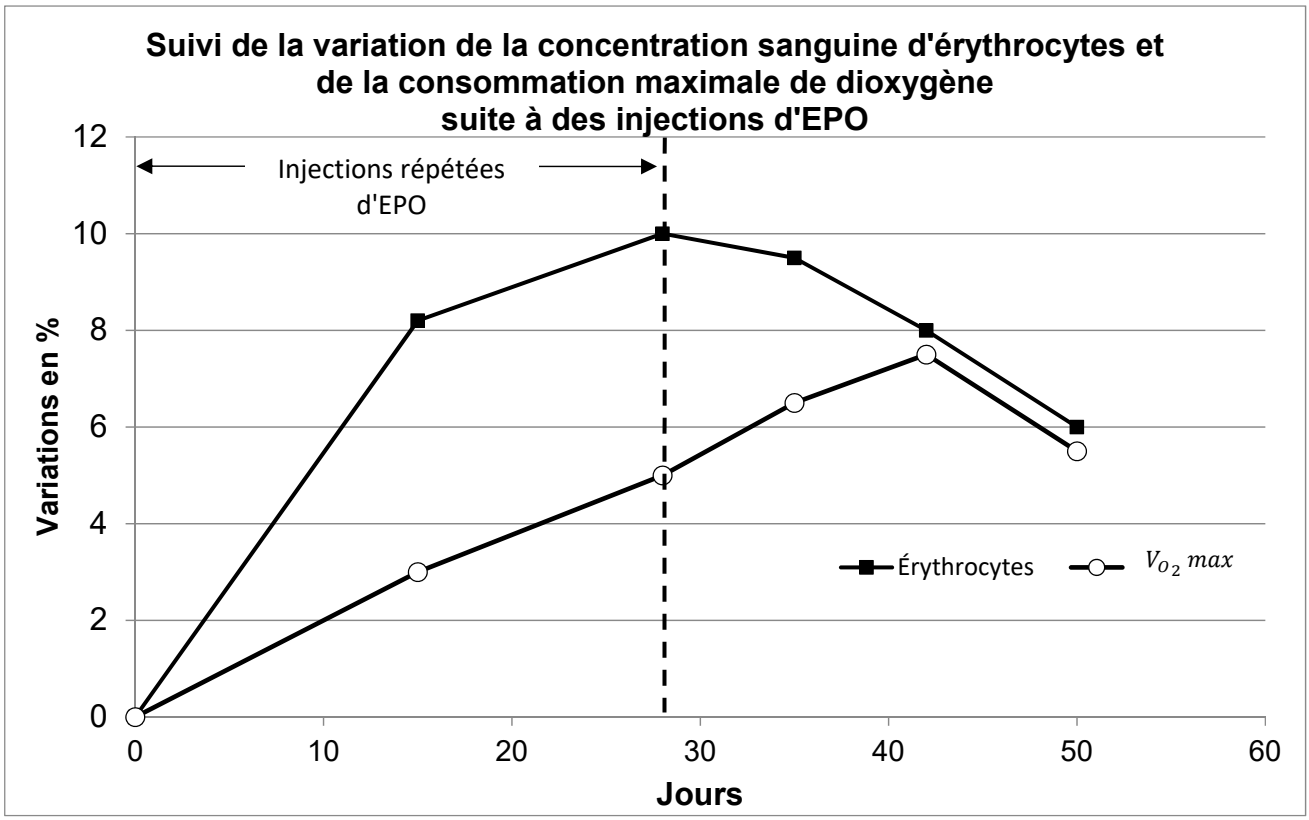
NeoR : gène de résistance à la néomycine

MCS : site multi-clonage (MCS) ; contient 10 sites de restriction couramment utilisés tels que *Bam*H I et *Eco*R I.

Promoteur CMV : promoteur d'origine virale permettant une forte expression des séquences codantes situées en aval dans une large gamme de cellules de mammifères. Il est généralement utilisé pour exprimer des protéines recombinantes dans une grande variété de cellules de mammifères, telles que les cellules CHO.

DOCUMENT 4 : Effets de l'injection répétée d'EPO sur un organisme humain

Source : C. Lundby et al., *British Journal of Pharmacology*, 2011
Une étude a été effectuée chez huit hommes volontaires en bonne santé, dans le cadre d'un protocole de recherche.
Chaque sujet a reçu des injections répétées d'EPO durant plusieurs semaines. Des prélèvements de sang ont été effectués à différents temps pour mesurer la concentration sanguine d'érythrocytes. La $V_{O_2\ max}$ de chaque sujet a également été déterminée régulièrement.
Les résultats présentés ci-dessous correspondent à la moyenne des données obtenues chez les sujets.



L'EPO est injectée à plusieurs reprises du jour 0 au jour 28 à raison d'une injection par jour.

- La consommation maximale d'oxygène, ou $V_{O_2\ max}$, indique la consommation maximale de dioxygène que l'organisme peut consommer lors d'un exercice physique. Elle s'exprime en $mL \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$.

Équation aux grandeurs du calcul de la variation de la concentration sanguine en érythrocytes

$$Variation = \frac{C_{N(érythrocytes\ ;\ sang)\ au\ jour\ X} - C_{N(érythrocytes\ ;\ sang)\ au\ jour\ 0}}{C_{N(érythrocytes\ ;\ sang)\ au\ jour\ 0}}$$

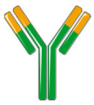
La variation s'exprime en %.

La concentration sanguine en érythrocytes en début d'expérience est égale à $4{,}5 \cdot 10^{12}$ érythrocytes$\cdot L^{-1}$.

DOCUMENT 5 : Dosage de l'EPO par méthode ELISA
Source : Extrait de la fiche technique du dosage de l'EPO par Biomerica.

Principe

Le test EPO ELISA sert à déterminer la concentration d'érythropoïétine (EPO) dans le sérum humain. Il utilise plusieurs réactifs présentés dans le tableau ci-dessous :

Anticorps de souris dirigé contre l'EPO humaine	Anticorps de souris dirigé contre l'EPO humaine marqué à la péroxydase de raifort (HRP)	EPO humaine
		

L'enzyme (HRP) transforme un substrat chromogène incolore (TMB) en un produit coloré jaune détectable par spectrophotométrie à 450 nm. Le calcul de la concentration en EPO dans l'échantillon repose sur l'établissement d'une courbe d'étalonnage réalisée en même temps que le dosage de l'échantillon.

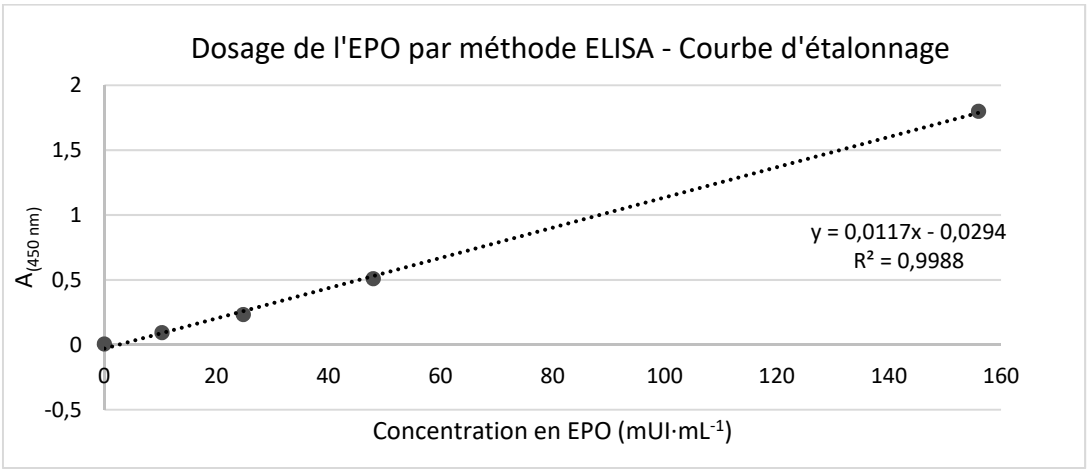
Protocole

Au préalable, le fond des puits de la plaque a été recouvert par un anticorps de souris dirigé contre l'EPO humaine.

1. Introduire 200 µL de différentes concentrations de solutions étalon EPO, de solutions contrôle et de sérum à tester dans différents puits.
2. Incuber 60 min à température ambiante puis réaliser 3 lavages avec un tampon salin.
3. Ajouter 25 µL d'anticorps anti-EPO humaine marqué dans chaque puits.
4. Incuber 120 min à température ambiante puis réaliser 3 lavages avec un tampon salin.
5. Ajouter 150 µL de substrat chromogène TMB dans chaque puits.
6. Incuber et agiter 15 min.
7. Ajouter 100 µL de solution bloquante dans chaque puits afin d'arrêter la réaction catalysée par la HRP.
8. Incuber 10 minutes puis lire l'absorbance de la solution dans les puits avec un lecteur de microplaques réglé à 450 nm.

Données : les valeurs physiologiques d'EPO urinaire sont comprises entre 4 et 25 mUI·mL^{-1}. Une valeur supérieure à 30 mUI·mL^{-1} peut signifier l'utilisation d'EPO recombinante et donc une suspicion de dopage.

Courbe d'étalonnage obtenue



Résultat du dosage de l'EPO dans un échantillon d'urine prélevé chez un sportif

Absorbance à 450 nm = 0,508

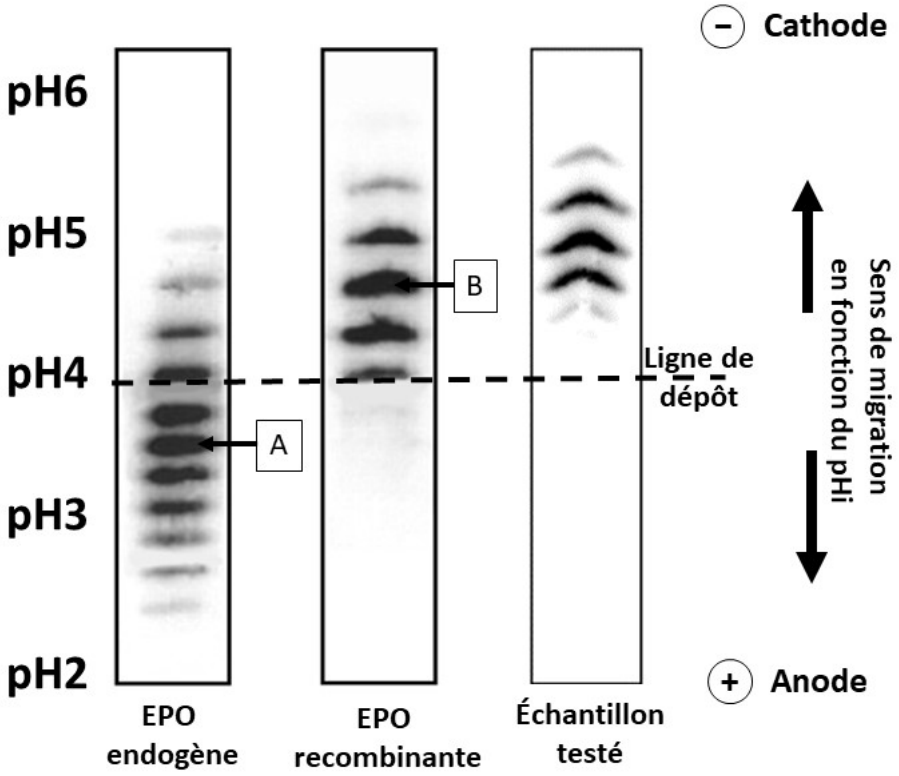
DOCUMENT 6 : Analyse des isoformes de l'EPO par FIE
Source : Document technique de l'Agence mondiale antidopage, TD2009EPO-FR, 01/04/2009

La focalisation isoélectrique (FIE) est un type d'électrophorèse permettant de séparer un mélange de molécules en fonction de la valeur de leur pH isoélectrique (pHi).

Le pHi est le pH pour lequel la charge globale de la protéine est nulle.
- Quand le pH du solvant est inférieur au pHi, la charge globale de la protéine est positive.
- Quand le pH du solvant est supérieur au pHi, la charge globale de la protéine est négative.

Le support sur lequel s'effectue la migration présente des caractéristiques physico-chimiques particulières : le pH varie régulièrement de 2 à 6 le long de la bande. Les protéines sont déposées au centre de la bande puis soumises à un champ électrique. Lors de la migration, la charge des protéines est modifiée par le pH des zones traversées.
Arrivées au pH correspondant à leur pHi, les protéines acquièrent une charge globale neutre et s'immobilisent. De cette façon, il est possible de séparer les protéines présentes au sein d'un échantillon selon la valeur de leur pHi.

Le résultat obtenu en fin de migration est présenté ci-dessous :



DOCUMENT 7 : Origine des biomédicaments

Hormone de croissance : le procès d'un scandale sanitaire
Source : Le Monde, Pascale Robert-Diard, publié le 05 février 2008

Le procès qui s'ouvre mercredi 6 février 2008 est celui d'une douloureuse *"exception française"*. Le pays compte en effet à lui seul plus de la moitié des cas de maladie de Creutzfeldt-Jakob dans le monde, déclenchés par un traitement à l'hormone de croissance dite *"extractive"*. Cette hormone de croissance provient de glandes hypophyses prélevées sur des cadavres qui étaient potentiellement contaminés par le prion responsable de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.
Entre 1983 et 1985, plus de 800 enfants ayant reçu cette hormone ont développé cette maladie. 115 enfants en sont morts.
Au centre du débat figure l'association France Hypophyse […]. Cette association a organisé un dispositif de collecte nationale des hypophyses. Une fois collectées, l'hormone de croissance était extraite et purifiée, puis cédée sous forme de poudre à la Pharmacie centrale des hôpitaux qui se chargeait du conditionnement et de la distribution aux patients.

Rapports d'office parlementaire
Source : Génomique et informatique, Rapport n° 20 (1999-2000), Sérusclat Franck, déposé le 14 octobre 1999

Un certain nombre de protéines naturelles étaient extraites de fluides biologiques dans un but thérapeutique mais il existait un risque de contamination lorsque les protéines provenaient de sujets malades non détectés. Puis, la connaissance des gènes et le développement des procédés biotechnologiques ont ouvert, au début des années 1980, une nouvelle voie pour la production des protéines thérapeutiques.

Produit	Indication thérapeutique principale	Premières dates d'autorisation
Insuline	Diabète sucré insulino-dépendant	1982
Hormone de croissance humaine	Insuffisance en hormone de croissance chez l'enfant	1985
EPO	Certaines anémies	1988
Facteur VIII	Hémophilie	1992

Les bioproductions
Source : Communiqué du CEA (3 mars 2022) et extraits de Réalités Industrielles, annales des Mines (novembre 2023)

La bioproduction obéit à des procédés et réglementations très stricts. C'est dans un milieu confiné, au sein d'un bioréacteur, que l'on fait d'abord croître des cellules vivantes afin qu'elles synthétisent la molécule voulue, par exemple une protéine d'intérêt. […]. Pour ce faire, on leur apporte un milieu de culture en contrôlant les paramètres critiques (température, métabolites, gaz dissous, viabilité cellulaire, etc.) et les composants qu'il y a dans ce milieu et en maintenant un environnement stérile. Une fois cette étape de croissance cellulaire terminée, place à la phase de récolte, puis de purification, de filtration et d'inactivation virale pour réussir à isoler la protéine d'intérêt.
Cette production prend entre 5 à 21 jours, et de nombreux contrôles de qualité ont lieu lors de ces processus. La bioproduction est plus variable, complexe et difficile à paramètrer qu'une production chimique de médicaments.
Par ailleurs, la France manque de fournisseurs technologiques pour les équipements et les matières premières, comme les plasmides (utilisés pour l'expression de protéines recombinantes, le clonage de gènes), ce qui rend le pays dépendant des fournisseurs internationaux.

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.