

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2023

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 collègue » 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
3 points	3 points	5 points	3 points	5 points	1 point

TRANSITION ÉCOLOGIQUE : DÉVELOPPEMENT DES BIOPESTICIDES

Les biopesticides constituent une alternative aux pesticides chimiques dans la lutte contre les insectes qui affectent les cultures végétales ou la population humaine.

Bacillus thuringiensis est une bactérie qui possède un gène *cry* codant une protéine Bt aux propriétés insecticides. En effet, cette toxine possède une activité larvicide sur différentes espèces d'insectes. Elle est largement utilisée en agriculture pour la lutte contre les insectes ravageurs, et notamment contre la pyrale du maïs, une chenille pouvant entraîner des pertes considérables en production agricole.

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

Une stratégie de lutte consiste en l'épandage direct de *Bacillus thuringiensis* dans la nature ou sur les cultures. Cette stratégie nécessite des pulvérisations aériennes régulières des bactéries. Le but est de lutter contre des ravageurs en agriculture biologique ou paysagère, mais également contre les moustiques qui nuisent au confort des populations humaines.

Une autre stratégie a été choisie par un laboratoire de recherche agricole qui a développé une méthode de production de maïs OGM luttant contre les larves qui attaquent les cultures. Le but est de produire une plante insecticide, exprimant le gène *cry*, lui permettant de lutter elle-même contre les larves qui détruisent les cultures agricoles.

Q1. C3 Proposer un avantage à modifier génétiquement le plant de maïs avec le gène de la toxine Bt plutôt que de réaliser un épandage direct de *Bacillus thuringiensis* sur les plants de maïs.

Cette production de maïs génétiquement modifié capable de résister à l'attaque d'insectes repose sur l'utilisation de deux bactéries :

- *Bacillus thuringiensis* qui possède un plasmide non injectable dans les cellules végétales, et qui porte le gène *cry* codant la protéine Bt.
- *Agrobacterium tumefaciens* qui est capable d'injecter son plasmide Ti dans des cellules végétales de maïs, l'ADN ainsi transféré s'intégrant dans le génome des plants de maïs.

1. DÉMARCHE D'OBTENTION DE PLANTS DE MAÏS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ

Au cours de la production des plants OGM, le laboratoire a procédé à des contrôles permettant de vérifier les étapes clés :

- Vérification de la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens*,
- Contrôle de la production de la protéine Bt dans les plants de maïs génétiquement modifiés.

Le **document 1** présente la démarche de production de plants de maïs génétiquement modifiés.

Q2. C1 Identifier les étapes qui conduisent à la modification génétique d'*Agrobacterium tumefaciens* puis celles aboutissant ensuite à l'obtention d'un plant de maïs génétiquement modifié.

- Q3.** ☐ C3 Expliquer l'intérêt de transférer le gène *cry* de la bactérie *Bacillus thuringiensis* à la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*.

2. VÉRIFICATION DE LA MODIFICATION GÉNÉTIQUE D'AGROBACTERIUM

2.1 Amplification du gène d'intérêt *cry* par PCR

Avant d'insérer le gène *cry* dans le plasmide Ti, il est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) comme précisé dans l'étape 2 du **document 1**. Le **document 2** présente le principe de la PCR ainsi que la séquence du gène *cry* et des amorces utilisées.

- Q4.** ☐ C1 Analyser le **document 2** afin d'identifier de façon argumentée chacune des étapes 1, 2 et 3 de la PCR.
- Q5.** ☐ C1 En déduire une propriété que doit posséder l'ADN polymérase utilisée lors de la PCR.
- Q6.** ☐ C3 Écrire la séquence d'ADN complémentaire de l'amorce anti-sens selon l'orientation 5'→3'.
- Q7.** ☐ C4 Argumenter sur quelle séquence simple brin du gène *cry* (1, 2, 3 ou 4) s'hybride l'amorce anti-sens.

Le **document 3** présente le résultat de la migration électrophorétique des produits de PCR.

- Q8.** ☐ C3 Exploiter le résultat obtenu pour le témoin d'efficacité pour déterminer la taille du gène *cry*.
- Q9.** ☐ C4 Expliquer en quoi la composition du témoin déposé sur la piste 3 permet de vérifier la spécificité de la PCR.
- Q10.** ☐ C3 Interpréter les résultats expérimentaux présentés dans le **document 3**.

2.2 Intégration du gène *cry* dans le plasmide Ti

Conformément à l'étape 3 décrite dans le **document 1**, le gène *cry* est intégré dans le plasmide Ti. Ce plasmide a une taille de $190 \cdot 10^3$ pb.

- Q11.** ☐ C2 Calculer la taille du plasmide TiR recombiné avec le gène *cry*.

Après sélection du plasmide TiR recombiné, les souches bactériennes *Agrobacterium tumefaciens* sont transformées avec ce plasmide puis mises en culture comme précisé dans les étapes 4 à 6 du **document 1**.

Le **document 4** présente les résultats de la mise en culture d'*Agrobacterium* après l'étape de transformation.

- Q12.** ☐ C3 Comparer les résultats de culture d'*Agrobacterium tumefaciens* sur les deux milieux pour expliquer en quoi ils permettent de dire que l'efficacité de transformation n'est pas de 100 %.

3. CONTRÔLE DE LA PRODUCTION DE LA PROTÉINE Bt DANS LES PLANTS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS

Après transfection des cellules de plant de maïs par *Agrobacterium tumefaciens*, le laboratoire a obtenu un plant de maïs génétiquement modifié par le gène *cry* appelé « maïs OGM Bt ».

Afin de vérifier la production de toxine Bt et de mesurer sa concentration, le laboratoire utilise une méthode de dosage ELISA sandwich présentée dans le **document 5**.

Q13. ☐ C1 Repérer dans la liste des matériels et réactifs fournie par le coffret, les éléments reconnaissant spécifiquement la toxine Bt.

Q14. ☐ C4 Expliquer le rôle des différents lavages.

Q15. ☐ C3 Schématiser sur la copie la cupule échantillon après le lavage réalisé à l'étape 4 en utilisant les symboles du **document 6**.

Q16. ☐ C3 Identifier les deux rôles de la solution d'arrêt ajoutée à l'étape 6 de l'ELISA.

Le **document 7** présente les résultats expérimentaux du dosage de la toxine Bt par ELISA sandwich.

Q17. ☐ C2 A partir de l'équation de la droite, établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la concentration en masse de toxine dans l'échantillon de maïs OGM Bt.

Q18. ☐ C2 Établir l'équation aux valeurs numériques puis déterminer la concentration en masse de toxine Bt dans l'échantillon de maïs OGM Bt.

4. BILAN

Q19. ☐ C5 Récapituler l'ensemble des vérifications mises en place par le laboratoire qui ont permis la production d'un maïs OGM Bt.

Partie II – Question de synthèse (durée indicative 0 h 30)

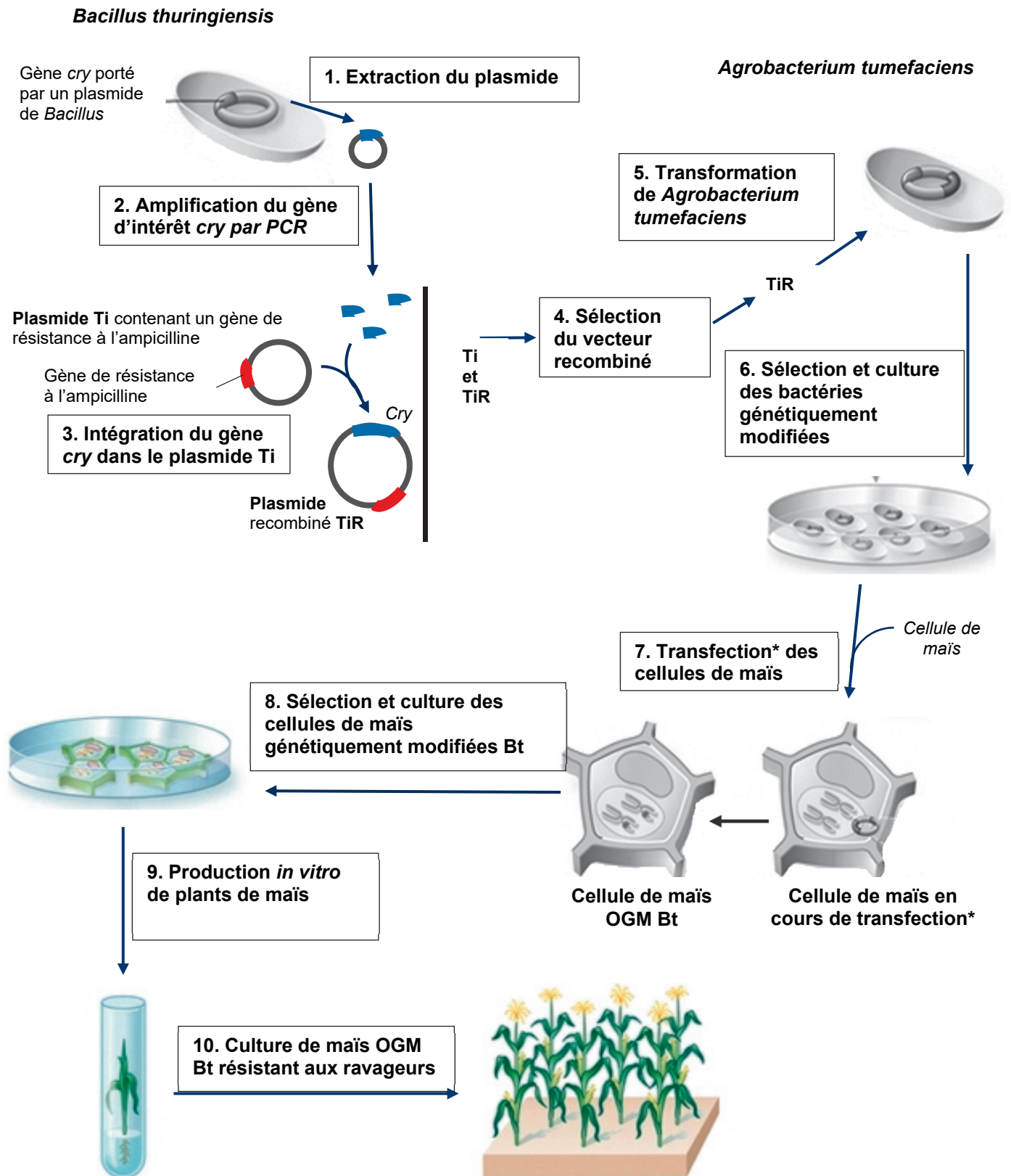
Le maïs MON810 est une lignée de maïs génétiquement modifié qui produit la toxine Bt, créé par la firme américaine Monsanto et cultivé dans certains pays d'Europe depuis 1998. Malgré l'avis émis par l'Agence Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), la France et plusieurs autres pays ont décidé de maintenir l'interdiction de la culture à visée de consommation des OGM sur leur territoire.

Le **document 8** présente plusieurs ressources :

- « le maïs MON810 sans risques ? » ;
- « une résistance dominante contre le maïs Bt » ;
- « maïs OGM MON810 : pas d'effets détectés sur la santé et le métabolisme de rats ».

Q20. ☐ C5 Exposer les arguments scientifiques sur lesquels l'agence européenne EFSA s'est appuyée pour rendre son avis en faveur de l'utilisation du maïs MON810, et les arguments en faveur de l'interdiction de la culture du maïs MON810.

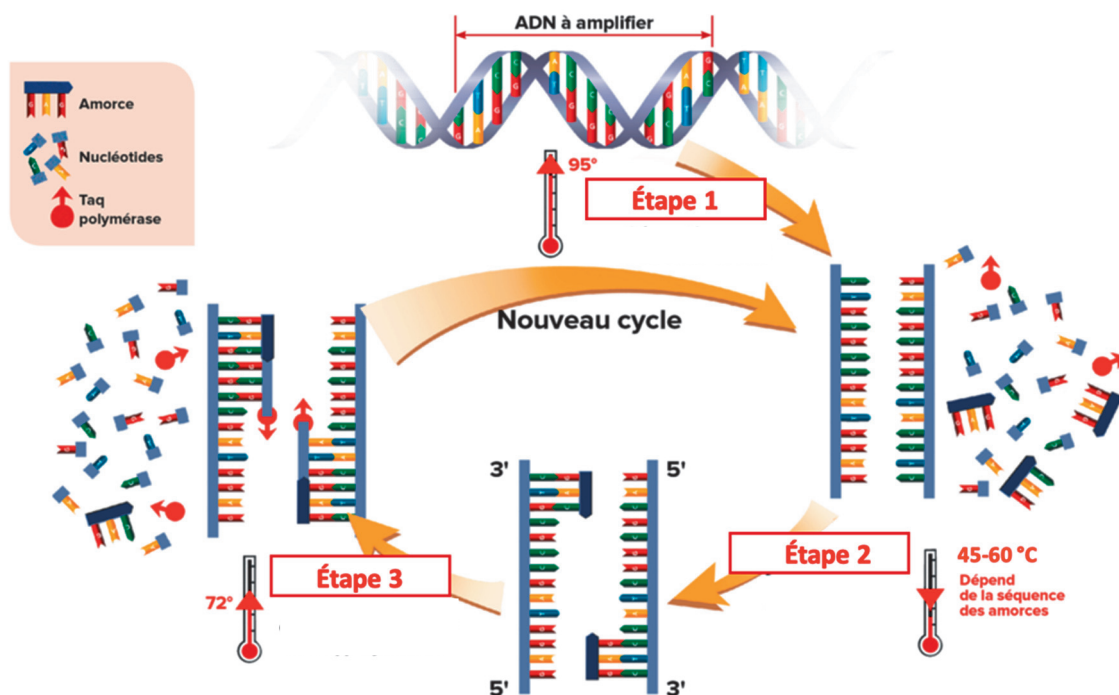
DOCUMENT 1 - Représentation schématique du processus d'obtention du maïs Bt génétiquement modifié (OGM)



* La transfection est un processus d'entrée d'ADN étranger dans des cellules eucaryotes
 Source : Schéma modifié de Léonie Schlosser (encyclopédie Larousse)

DOCUMENT 2 - Amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) du gène d'intérêt *cry*

Schéma représentant le cycle des 3 étapes de la polymérisation en chaîne (PCR)



La Taq polymérase est une ADN polymérase

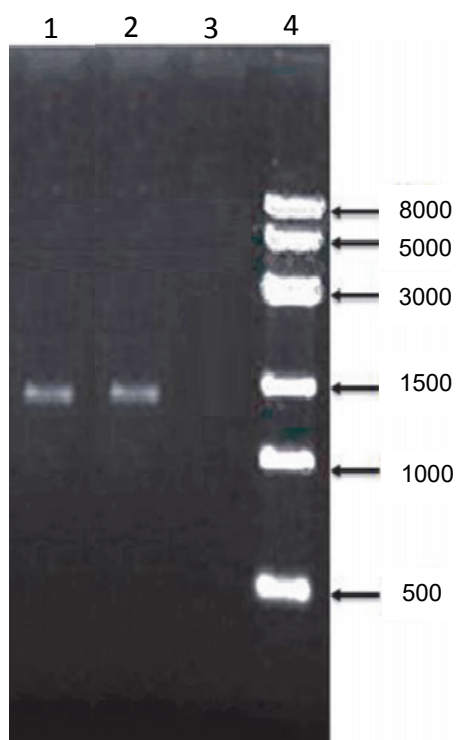
Source du document : <https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/>

Les séquences du gène *cry* et des amorces utilisées en PCR

Séquence du gène <i>cry</i>	
ADN double brin	① ② 5' GGTGCTTCCTATTCTTTGGCGTAC [...] TATGGTAATCAAGGGACCTGGTCA 3' 3' CCACGAAGGATAAGAAACCGCATG [...] ATACCATTAGTTCCTGGACCAGT 5' ③ ④

Séquences des amorces utilisées pour amplifier le gène <i>cry</i>	
Amorce anti-sens	5' TGACCAGGTCCTTGATTAC 3'
Amorce sens	5' GGTGCTTCCTATTCTTTGGC 3'

DOCUMENT 3 – Photographie d'électrophorèse des produits de PCR

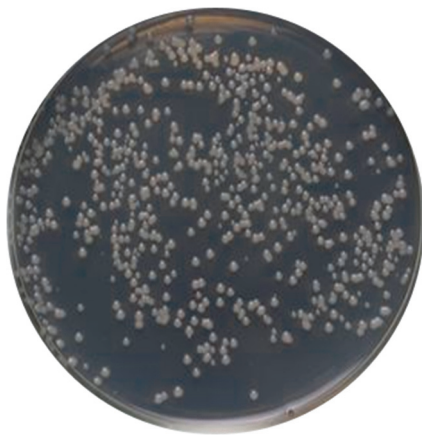


Dépôts	Noms des dépôts PCR	Composition des mélanges réactionnels
1	Témoin d'efficacité	Gène <i>cry</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
2	Essai	Gène <i>cry</i> extrait de <i>Bacillus thuringiensis</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
3	Témoin de spécificité	Séquence d'ADN ne contenant pas le gène <i>cry</i> Amorces spécifiques de <i>cry</i> Nucléotides Enzyme Taq polymérase Tampon et co-enzymes
4	marqueur de taille en pb	Fragments d'ADN de tailles connues

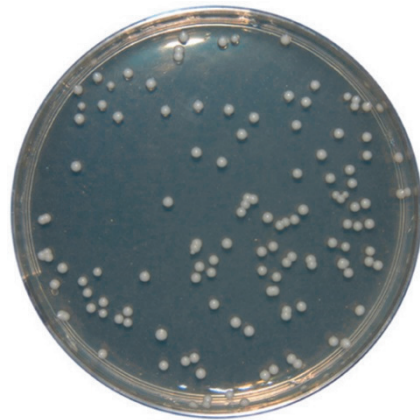
DOCUMENT 4 – *Agrobacterium tumefaciens* obtenues après transformation par le plasmide recombiné TiR

Après l'étape de transformation avec le plasmide TiR, deux milieux de culture différents sontensemencés à l'anse calibrée avec la même suspension d'*Agrobacterium tumefaciens*.

Après 24 heures d'incubation, les géloses sont observées.



Gélose nutritive



Gélose nutritive additionnée
d'ampicilline

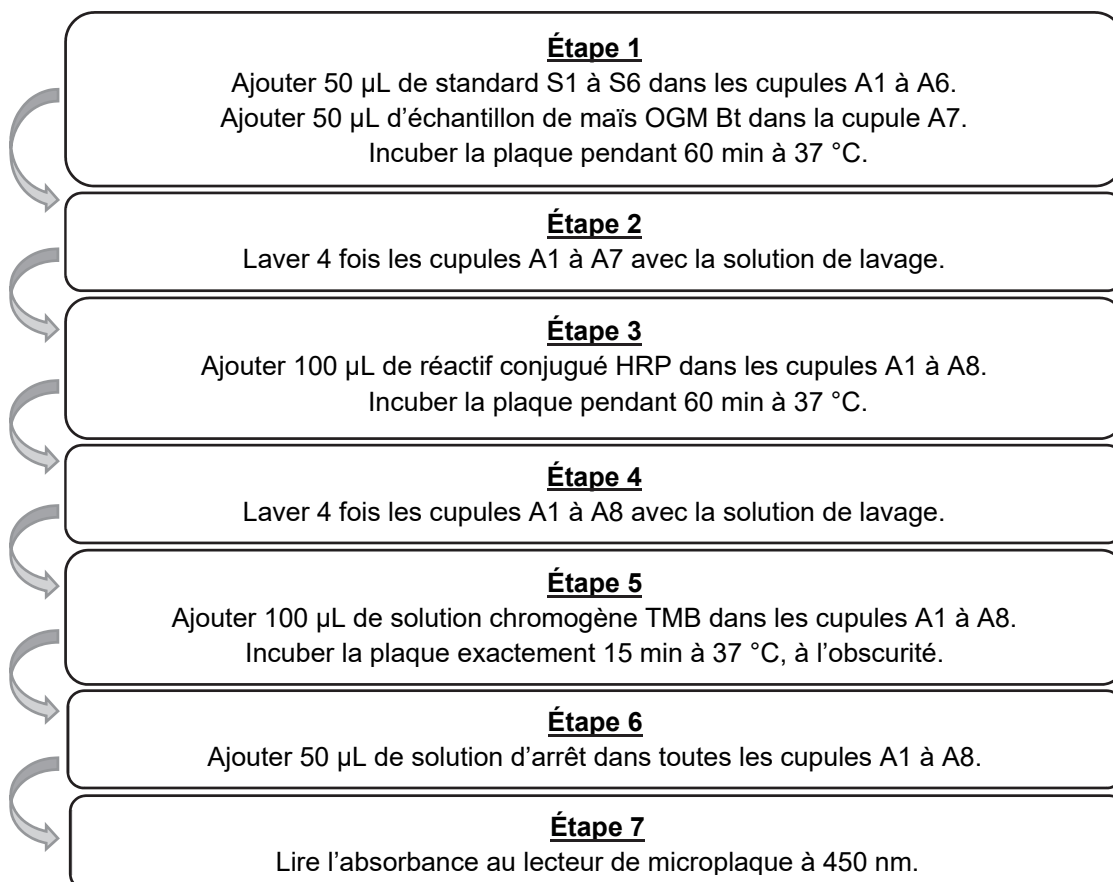
DOCUMENT 5 - Extraits de la fiche technique du coffret « Plant *Bacillus thuringiensis* CRY1AB Toxin (BT) ELISA »

Le coffret « Plant *Bacillus Thuringiensis* CRY1AB Toxin (BT) ELISA » permet de déterminer la concentration en masse de toxine Bt présente dans des extraits de maïs par méthode immuno-enzymatique ELISA sandwich. Cette technique repose sur l'utilisation d'un anticorps immobilisé et d'un anticorps soluble marqué reconnaissant des déterminants antigéniques différents.

Matériel et réactifs fournis dans le coffret :

Barrette de 9 cupules : ● Des anticorps anti-toxine Bt sont immobilisés au fond des cupules A1 à A8
Standards S1 à S6 : solutions étalons de toxine Bt à des concentrations en masse croissantes
Réactif conjugué HRP : solution d'anticorps anti-toxine Bt couplé à la peroxydase de raifort (HRP)
Solution de lavage
Solution chromogène TMB : le 3,3',5,5'- tétraméthylbenzidine est le substrat de la HRP. Le produit de la réaction enzymatique devient jaune en milieu acide et absorbe à 450 nm
Solution d'arrêt : solution acide

Mode opératoire :



Source du document : fiche technique du coffret Plant *Bacillus Thuringiensis* CRY1AB Toxin (Bt) ELISA Kit - MyBioSource

DOCUMENT 6 - Symboles à utiliser pour la schématisation de l'édifice moléculaire

Extrait de maïs OGM Bt
contenant :



Toxine Bt

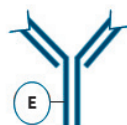


Autres protéines de
maïs



Composants du kit

Anticorps anti-toxine Bt
immobilisé au fond de la cupule



Anticorps anti-toxine Bt couplé à
la peroxydase de raifort (HRP)

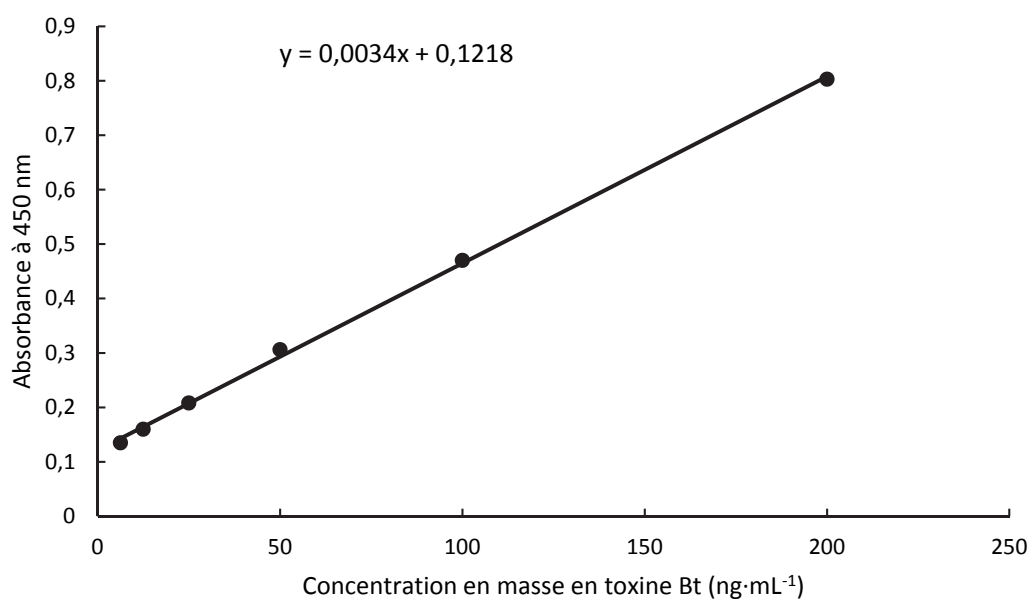
DOCUMENT 7 - Dosage de l'échantillon de maïs OGM Bt par ELISA sandwich

Résultats expérimentaux

	Gamme étalon							essai
ρ (toxine Bt ; échantillon) (ng · mL ⁻¹)	0	6,25	12,5	25	50	100	200	?
$A_{450 \text{ nm}}$	0,122	0,135	0,160	0,208	0,306	0,470	0,805	0,700

Courbe d'étalonnage

$$A_{450\text{nm}} = f(\text{Concentration en masse toxine Bt})$$



DOCUMENT 8 - La culture des maïs génétiquement modifiés en France

Le maïs MON810 sans risques ?

D'après Techniques de l'ingénieur, mai 2017

Le groupe de travail sur les OGM de l'EFSA a évalué le rapport annuel 2015 de Monsanto portant sur le suivi environnemental post-commercial du maïs MON 810. Son avis est publié le 8 mai 2017. (...) Les insectes ne sont pas encore devenus résistants à cet OGM. Par ailleurs, aucun effet indésirable n'a été observé chez l'être humain ou l'animal.

Au final, l'EFSA estime qu'il n'y a aucune preuve qui pourrait invalider les évaluations précédentes sur la sécurité du maïs MON 810.

Toutefois, le groupe de travail réitère ses recommandations précédentes pour améliorer la méthodologie. Elle considère que la sensibilité de détection pour surveiller la résistance des insectes est pour le moment insuffisante.

Une résistance dominante contre le maïs Bt

D'après Biofutur 2013

Le maïs transgénique Bt exprime une toxine insecticide issue de la bactérie *Bacillus thuringiensis*. Il repousse ainsi les insectes prédateurs en détruisant les parois de l'estomac des larves après l'ingestion des feuilles ou des tiges de maïs OGM. Mais les ravageurs s'adaptent. En effet, certains d'entre eux portent une mutation récessive qui leur permet de ne pas fixer la toxine au niveau intestinal. Pour limiter la transmission du gène conférant la résistance, les agriculteurs et les chercheurs prévoient une zone « refuge », dépourvue de maïs Bt, qui permette de conserver un pool de prédateurs sensibles à la toxine et de limiter ainsi l'expression de la résistance au sein de la population globale.

Mais cette solution risque de devenir insuffisante. Des chercheurs de l'IRD et de l'Université Paris-Saclay (Orsay) ont découvert un nouveau mécanisme de protection contre le maïs Bt. Afin d'évaluer la distribution sud-africaine du gène récessif de résistance au sein des chenilles du papillon de nuit *B. fusca*, les chercheurs ont réalisé des croisements avec des insectes contrôles. Ils ont observé que la descendance survit à la toxine Bt.

Un nouveau gène de résistance, à transmission dominante cette fois, est apparu en Afrique du Sud. Si les mécanismes physiologiques à l'origine de la résistance doivent encore être caractérisés, les chercheurs ont observé une transmission très rapide de ce gène.

Maïs OGM MON810 : pas d'effets détectés sur la santé et le métabolisme des rats

D'après www.inrae.fr

Des rats ont été nourris pendant 6 mois avec un régime contenant soit du maïs transgénique [MON810], soit un maïs contrôle non-OGM. Cette période de temps, qui double celle du test requis par la réglementation européenne, équivaut au tiers de la vie moyenne des rats.

L'objectif des chercheurs était d'identifier des biomarqueurs précoces d'altération de certaines fonctions biologiques chez les rats nourris au maïs OGM pendant 3 mois et 6 mois. Pour cela, ils ont utilisé deux techniques à haut débit ultra-sensibles : la métabolomique (étude des métabolites) et la transcriptomique (étude de l'expression des gènes). Ces techniques ont permis d'identifier et de doser des métabolites (acides aminés, sucres et autres petites molécules) et de caractériser l'expression des ARN messagers cellulaires. Les résultats ont montré qu'il n'y avait aucune différence significative du point de vue biologique entre régimes OGM et non-OGM.

Par ailleurs, aucune altération des organes et, en particulier, du foie, des reins ou de l'appareil reproducteur des rats nourris avec le maïs OGM n'a été observée par les techniques d'anatomopathologie (études macro- et microscopique des tissus pour détecter d'éventuelles anomalies).