

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2024

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 14 pages numérotées de 1/14 à 14/14.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document scientifique ou technologique	Effectuer des calculs nécessaires pour exploiter les documents	Interpréter des données de biochimie, de biologie ou de biotechnologie	Argumenter pour étayer un raisonnement scientifique	Rédiger ou élaborer une synthèse en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques	Communiquer à l'écrit à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté
2 points	2 points	5 points	5 points	5 points	1 point

APPORT DES BIOTECHNOLOGIES POUR LUTTER CONTRE L'INTOXICATION ET LA POLLUTION À L'ARSENIC

L'arsenic (As) est un élément toxique très répandu dans l'environnement. Il peut pénétrer dans l'organisme par voie respiratoire (sous forme de vapeurs ou de poussières), par voie digestive et également par voie cutanée. L'arsenic est rapidement distribué dans tout l'organisme puis se fixe aux protéines pour s'accumuler dans le foie, la peau, les cheveux et les poumons.

Chez les individus exposés à l'arsenic, on peut observer une augmentation du nombre de maladies opportunistes : ce sont des maladies causées par des microorganismes habituellement non pathogènes qui provoquent des infections chez les personnes ayant un système immunitaire déficient.

En France, les intoxications à l'arsenic sont dues le plus souvent à la présence d'arsenic dans l'eau et dans le sol près de massifs montagneux ou d'anciennes mines d'extraction de métaux.

En 2019, une étude a été effectuée sur une partie de la population habitant autour du site d'une ancienne mine d'or dans le but d'évaluer la contamination d'une population exposée à l'arsenic. La détection précoce de l'arsenic est un enjeu, à la fois pour la santé des personnes contaminées, mais également pour identifier les zones à risques de l'environnement.

Les biotechnologies offrent des solutions permettant d'évaluer la contamination chez les individus et dans l'environnement.

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

Un laboratoire de recherche mène une étude qui vise :

- d'une part, à mesurer le degré de contamination de la population humaine à l'arsenic et les effets toxiques qui en découlent ;
- d'autre part, à mettre au point une méthode de dosage biotechnologique de l'arsenic dans l'environnement, par l'utilisation d'un organisme génétiquement modifié.

1 INTOXICATION PAR L'ARSENIC

La prise en charge des personnes intoxiquées par l'arsenic se fait d'abord par un dosage de l'arsenic dans leurs urines, puis par une caractérisation et prise en compte des effets toxiques observés sur leur organisme.

1.1 Dosage de l'arsenic dans l'organisme

Le taux d'arsenic dans l'organisme est estimé en déterminant le taux d'arsenic dans l'urine. Pour pouvoir comparer les résultats de dosage de l'arsenic urinaire entre les individus, une normalisation est réalisée à l'aide du dosage de la créatinine, molécule constamment produite par les reins. La variation du volume urinaire émis est ainsi prise en compte en rapportant la concentration urinaire en arsenic à la concentration urinaire en créatinine.

Le dosage de la créatinine est réalisé par méthode spectrophotométrique. Le **document 1** présente le principe du dosage de la créatinine urinaire et les résultats obtenus pour deux individus.

Q1. C2 À l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage, calculer la concentration en masse de créatinine dans l'urine diluée pour le second prélèvement.

- Q2.** [C2] En déduire la concentration en masse de créatinine dans l'urine non diluée, $p_{(\text{créatine; urine})}$ (résultat attendu avec 3 chiffres significatifs).
- Q3.** [C2] Établir l'équation aux unités, puis l'équation aux valeurs numériques permettant de calculer le taux d'arsenic urinaire dans le second prélèvement. Calculer ce taux $T_{(\text{créatine; urine})}$ (résultat attendu avec 3 chiffres significatifs).
- Q4.** [C3] Conclure sur l'intoxication de l'individu au bout de deux mois. Commenter l'évolution de l'intoxication sur les deux mois.

1.2 Métabolisme de l'arsenic dans le foie

Avant son excrétion dans l'urine, l'arsenic est métabolisé au niveau du foie en arsenic méthylé réduit ($\text{AsH}_2\text{-CH}_3$). Le **document 2** présente les réactions simplifiées du métabolisme de l'arsenic qui se déroulent dans cet organe.

- Q5.** [C3] Montrer que la réaction 1 est une réaction d'oxydoréduction en écrivant la demi-équation d'oxydation.
- Q6.** [C3] Écrire l'équation de la réaction bilan de l'ensemble de la voie métabolique et réaliser le bilan de matière de cette voie sous forme d'un tableau.

1.3 Toxicité de l'arsenic vis-à-vis du système immunitaire

Des recherches ont été réalisées pour étudier les effets de l'arsenic sur la prolifération de cellules immunitaires. Le **document 3** présente la démarche et les résultats de cette étude pour un individu intoxiqué par l'arsenic et pour un individu non intoxiqué.

- Q7.** [C1] Comparer l'effet des activateurs sur les lymphocytes B d'un individu intoxiqué à l'arsenic et sur les lymphocytes B d'un individu non intoxiqué.
- Q8.** [C1] Analyser alors l'ensemble des résultats obtenus pour les individus intoxiqués afin de déduire l'effet de l'arsenic sur la prolifération des différents lymphocytes T.

Le **document 4** présente un schéma synthétique de l'activation et de la différenciation des principales populations cellulaires impliquées dans la réponse immunitaire adaptative.

- Q9.** [C3] Expliquer comment l'intoxication à l'arsenic peut perturber la réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire et à médiation humorale.
- Q10.** [C4] En déduire une explication à l'augmentation du nombre de maladies opportunistes dans une population intoxiquée à l'arsenic.

2 MODIFICATION GÉNÉTIQUE D'UNE SOUCHE BACTÉRIENNE D'ESCHERICHIA COLI POUR RÉALISER UN DOSAGE DE LA POLLUTION DES EAUX

Au vu des effets toxiques de l'arsenic chez l'être humain, il est essentiel non seulement de détecter sa présence mais également de quantifier l'arsenic dans l'environnement et, notamment, dans les eaux.

Pour cela, des chercheurs ont construit un organisme génétiquement modifié agissant comme un biocapteur à arsenic. Cette souche bactérienne d'*Escherichia coli* génétiquement modifiée est capable d'émettre de la lumière en présence d'arsenic.

Elle est transformée avec un plasmide comportant :

- un promoteur activé par l'arsenic et nommé pArs ;
- les gènes de la luciférase, en aval du promoteur pArs.

2.1 Amplification du promoteur pArs par PCR

Un promoteur est une séquence située en amont d'un gène, nécessaire pour initier l'expression de ce dernier. Une souche résistante à l'arsenic, appartenant à l'espèce *Escherichia coli*, a été isolée. Cette dernière possède un promoteur pArs qui contrôle l'expression des gènes de résistance à l'arsenic.

Ce promoteur pArs est inductible par l'arsenic, c'est-à-dire qu'il active l'expression des gènes situés en aval uniquement en présence d'arsenic.

Dans un premier temps, le promoteur pArs est amplifié par PCR. Les extrémités de la séquence nucléotidique à amplifier sont présentées dans le **document 5**.

Q11. [C4] Montrer, à l'aide d'un schéma, que le couple d'amorces permet d'amplifier la séquence d'ADN, en précisant l'orientation des brins.

2.2 Construction du plasmide et transformation de la souche

Une fois le promoteur obtenu et purifié, il est inséré dans un plasmide, pBLuxAB, qui porte le gène de résistance à l'ampicilline (AmpR) et les gènes *LuxA/LuxB* codant la luciférase capable d'émettre de la bioluminescence. La carte du plasmide recombinant obtenu, pBArsLuxAB, est donnée dans le **document 6**.

Une souche bactérienne d'*E. coli* sensible à l'ampicilline est transformée avec le plasmide pBArsLuxAB.

Q12. [C4] Expliquer l'intérêt d'utiliser une souche bactérienne sensible à l'ampicilline pour la transformation avec ce plasmide.

Après culture sur milieu ordinaire additionné d'ampicilline, il faut vérifier que le plasmide présent dans les bactéries contient bien l'insert pArs. En effet, lors de l'étape d'insertion du promoteur dans le plasmide, le vecteur peut parfois se refermer sur lui-même sans intégrer l'insert.

Pour cela, une extraction plasmidique est réalisée à partir de plusieurs colonies isolées, suivie d'une étape de digestion des plasmides avec l'enzyme de restriction PciI. Cette analyse permet ainsi de distinguer le plasmide pBLuxAB et le plasmide pBArsLuxAB.

Q13. [C2] Calculer la taille des deux fragments attendus après hydrolyse du plasmide recombinant pBArsLuxAB par l'enzyme de restriction PciI.

Q14. [C4] Argumenter l'obtention d'une seule bande après hydrolyse du plasmide pBLuxAB par l'enzyme de restriction PciI.

Le **document 7** présente l'électrophorégramme obtenu pour une des colonies prélevées.

Q15. [C3] Analyser l'électrophorégramme pour vérifier la présence de l'insert dans le plasmide extrait de la colonie étudiée.

2.3 Comparaison de la bioluminescence émise par des souches fraîches et par des souches lyophilisées

Les chercheurs disposent à présent d'une souche d'*E. coli* génétiquement modifiée, sensible à l'arsenic grâce au plasmide pBArsLuxAB. Pour réaliser des mesures sur le terrain, ils souhaitent utiliser des souches lyophilisées¹. Si les essais sont concluants, les souches lyophilisées présenteront l'avantage d'être transportées facilement sous forme de poudre.

La bioluminescence est testée en présence de concentrations croissantes en arsenic avec des bactéries fraîchementensemencées ou avec des bactéries lyophilisées. L'intensité lumineuse est mesurée à l'aide d'un luminomètre et exprimée en unité arbitraire.

L'objectif est de mesurer des concentrations en arsenic comprises entre 30 et 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Le **document 8** présente la procédure opératoire et les résultats de mesurage de la bioluminescence émise en fonction de la concentration en arsenic dans l'eau.

Q16. [C3] Montrer qu'avec les bactéries d'une culture fraîchementensemencée, il est possible de déterminer des concentrations d'arsenic comprises entre 30 et 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Q17. [C3] Expliquer alors s'il est possible d'utiliser des bactéries transformées lyophilisées pour réaliser des mesures de pollution à l'arsenic sur le terrain.

3 BILAN

Q18. [C5] Présenter, sous forme de logigramme, les différentes étapes permettant d'obtenir une souche d'*Escherichia coli* émettant de la bioluminescence en réponse à la présence d'arsenic.

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

En France, l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) nécessite de déposer une déclaration ou une demande d'autorisation, selon le mode de production et les risques identifiés, à une agence nationale ou européenne.

Le **document 9** présente des informations sur les risques liés aux plantes génétiquement modifiées et des informations sur la régulation de leur utilisation en France.

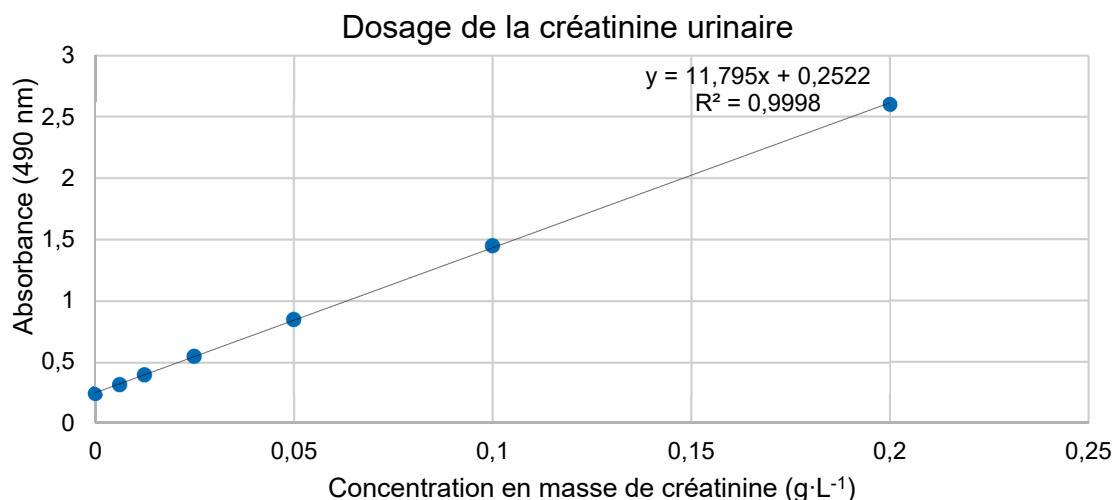
Q19. [C5] Expliquer l'intérêt d'imposer une demande d'autorisation à l'organisme compétent avant utilisation d'un OGM, en s'appuyant sur des faits scientifiques liés à l'environnement.

¹ La lyophilisation est la dessiccation d'un produit par sublimation, c'est-à-dire une réaction de déshydratation par passage de l'eau de l'état solide à gazeux.

DOCUMENT 1 : Principe du dosage de la créatinine urinaire

Les échantillons (étalon ou urine à doser) sont incubés pendant 30 minutes avec un réactif qui forme un complexe jaune-orangé en présence de créatinine. L'absorbance est lue à 490 nm. Les échantillons d'urine doivent être dilués au préalable au **1/20^e**.

- **Courbe d'étalonnage obtenue :**



Source : Urinary Creatinine Assay Kit , Cell Biolabs inc.

- **Résultats expérimentaux :**

Tableau des valeurs numériques obtenues chez un individu âgé de 5 ans

	Absorbance à 490 nm d'un échantillon d'urine diluée au 1/20 ^e	Concentration en masse de créatinine dans l'urine non diluée (g·L ⁻¹) $\rho_{(\text{créatine ; urine})}$	Concentration en masse d'arsenic urinaire (μg·L ⁻¹) $\rho_{(\text{arsenic ; urine})}$	Taux d'arsenic urinaire (μg d'arsenic par g de créatinine) $T_{(\text{arsenic ; urine})}$
Premier prélèvement	0,660	0,690	17,6	25,5
Second prélèvement (2 mois plus tard)	0,898	À calculer	21,0	À calculer

- **Calcul du taux :**

Le taux d'arsenic dans l'urine peut être déterminé par l'équation aux grandeurs suivantes :

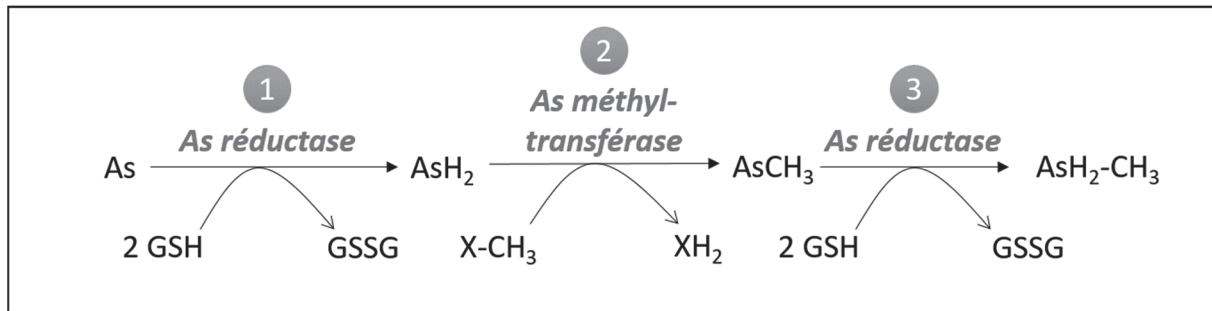
$$T_{\text{arsenic ; urine}} = \frac{\rho_{(\text{arsenic ; urine})}}{\rho_{(\text{créatinine ; urine})}}$$

La valeur physiologique maximale acceptée pour le taux d'arsenic urinaire chez un individu en bonne santé est de 10 microgrammes d'arsenic par gramme de créatinine (μg·g⁻¹).

DOCUMENT 2 : Métabolisme hépatique de l'arsenic

La voie métabolique simplifiée de transformation de l'arsenic représentée ici contient trois réactions. Les substrats ou produits qui interviennent dans ces réactions enzymatiques sont les suivants :

- l'arsenic qui existe sous une forme oxydée ou réduite, As ou AsH₂ ;
- le glutathion qui existe sous une forme oxydée ou réduite, GSSG ou GSH ;
- X-CH₃ : S-adénosylméthionine qui apporte le groupement méthyl à l'arsenic ;
- XH₂ : S-adénosylhomocystéine.



Source : Mélinda Macoch. Thèse : Impact de l'arsenic inorganique sur la physiologie in vitro des cellules dendritiques humaines. Université Rennes 1, 2013.

DOCUMENT 3 : Effets de l'intoxication à l'arsenic sur la prolifération des lymphocytes

a – Démarche expérimentale

Les lymphocytes peuvent être maintenus en culture pendant 48 h mais ils ne se multiplient pas en l'absence de substances activatrices.

- Un prélèvement de sang est effectué chez un individu non intoxiqué et chez un individu intoxiqué à l'arsenic.
- Les différentes populations de lymphocytes sont purifiées puis mises en culture 48 h avec ou sans activateur spécifique de la population étudiée.
- Une quantification des cellules est effectuée avant et après culture.

Le taux de prolifération est déterminé en faisant le rapport entre le nombre de cellules après culture et le nombre initial de cellules.

La démarche expérimentale est réalisée sur les cellules de plusieurs individus intoxiqués et non intoxiqués et les résultats. La moyenne des résultats obtenus est reportée dans les tableaux ci-dessous.

b - Prolifération des sous-populations de lymphocytes obtenus chez un individu non intoxiqué

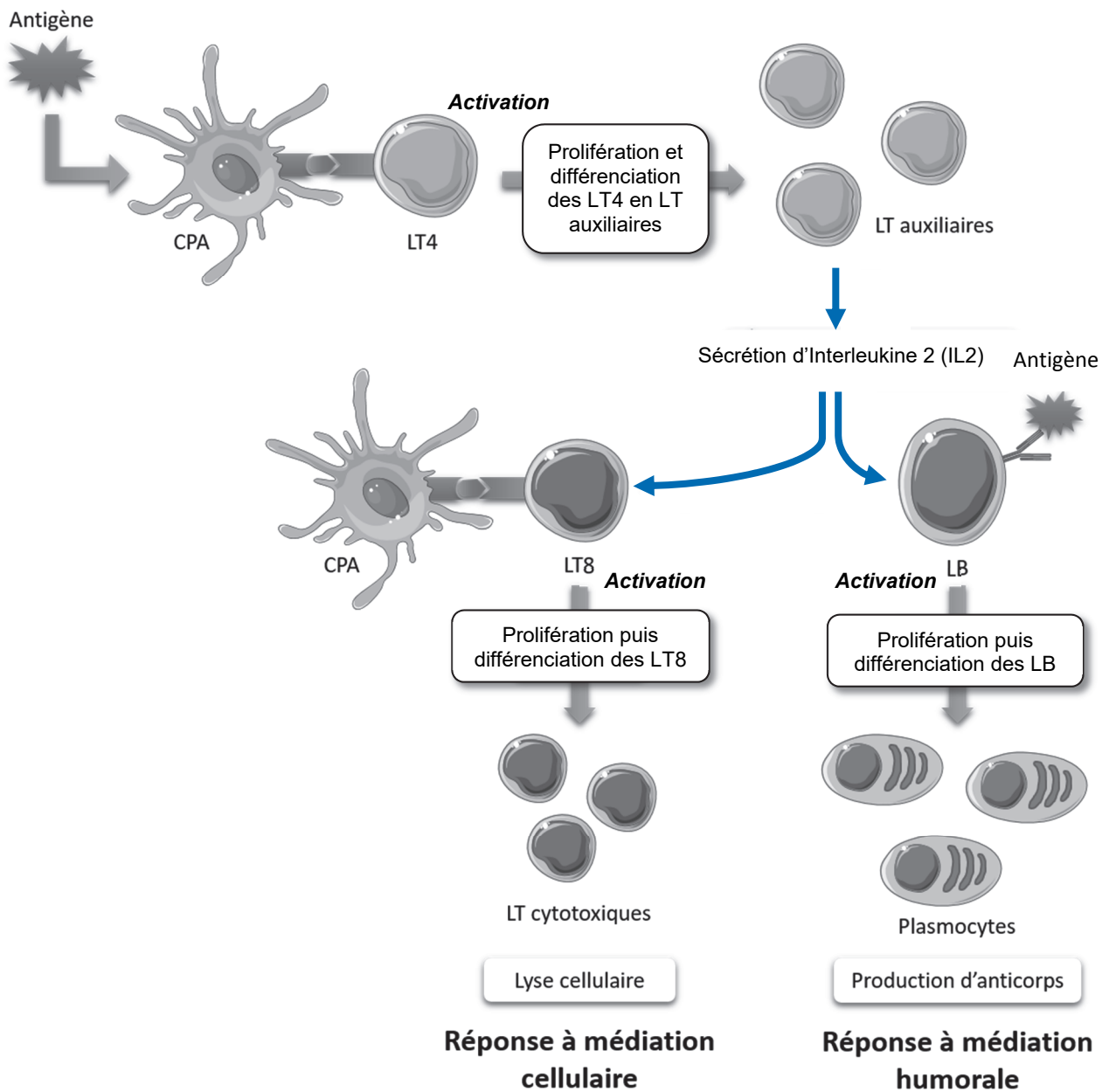
	Taux de prolifération sans activateur	Taux de prolifération avec activateurs	
		Spécifiques des L_T	Spécifiques des L_B
Lymphocytes T auxiliaires purifiés	1	$4,2 \pm 0,2$	
Lymphocytes T cytotoxiques purifiés	1	$4,5 \pm 0,2$	
Lymphocytes B purifiés	1		$2,2 \pm 0,1$

c - Prolifération des sous-populations de lymphocytes obtenus chez un individu non intoxiqué à l'arsenic

	Taux de prolifération sans activateur	Taux de prolifération avec activateurs	
		Spécifiques des L_T	Spécifiques des L_B
Lymphocytes T auxiliaires purifiés	1	$1,2 \pm 0,2$	
Lymphocytes T cytotoxiques purifiés	1	$4,4 \pm 0,1$	
Lymphocytes B purifiés	1		$2,0 \pm 0,2$

Source : Inspiré de Biswas, R et al (2008) Analysis of T-cell proliferation and cytokine secretion in the individuals exposed to arsenic. Hum. Exp. Toxicol. 27, 381–386.

DOCUMENT 4 : Modélisation de la réponse immunitaire adaptative *in vivo*

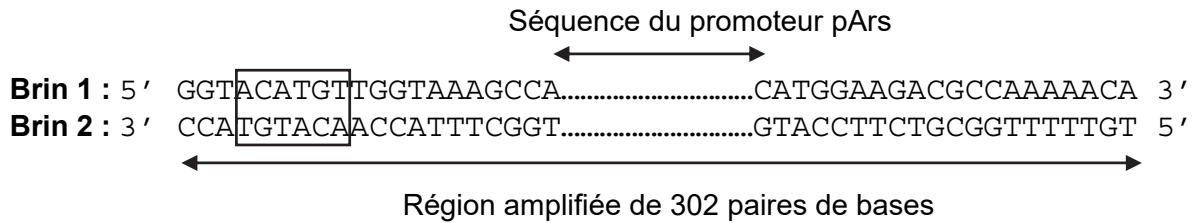


Légendes :

CPA : cellule présentatrice d'antigène
LT : lymphocyte T
LB : lymphocyte B

DOCUMENT 5 : Séquences des extrémités du promoteur pArs à amplifier et des amorces disponibles

- **Extrémité de la séquence du fragment d'ADN à amplifier**



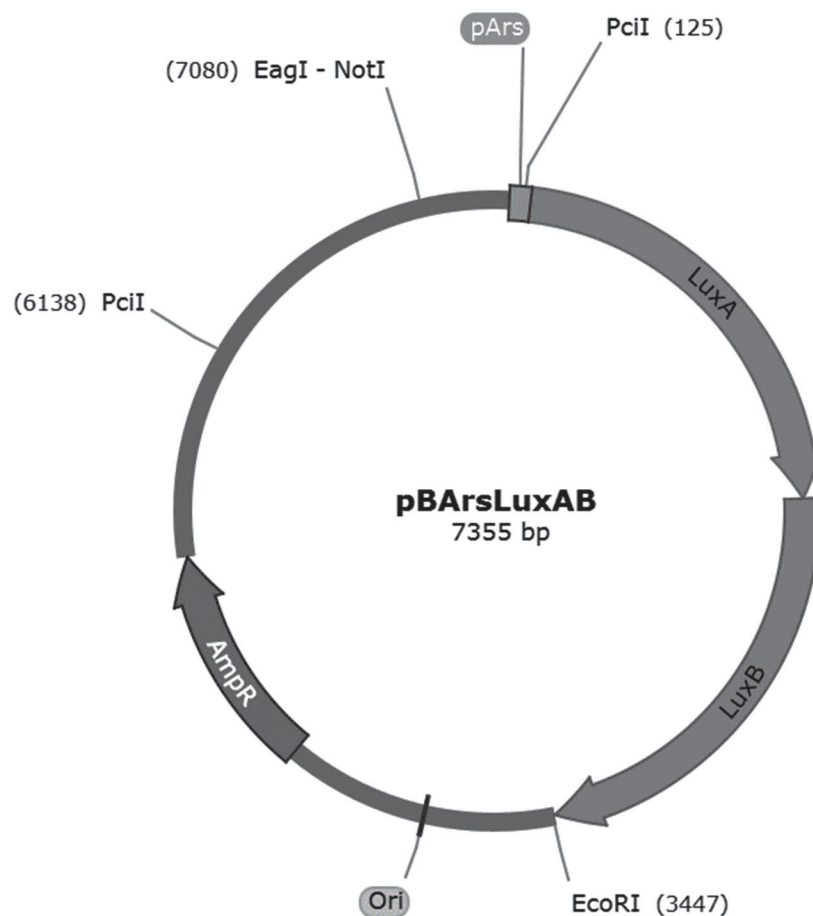
- **Site de restriction *PciI***



- **Couple d'amorces**

Amorce sens	5' GGTACATGTTGGTAAAGCCA 3'
Amorce anti-sens	5' TGTTTTTGGCGTCTTCCATG 3'

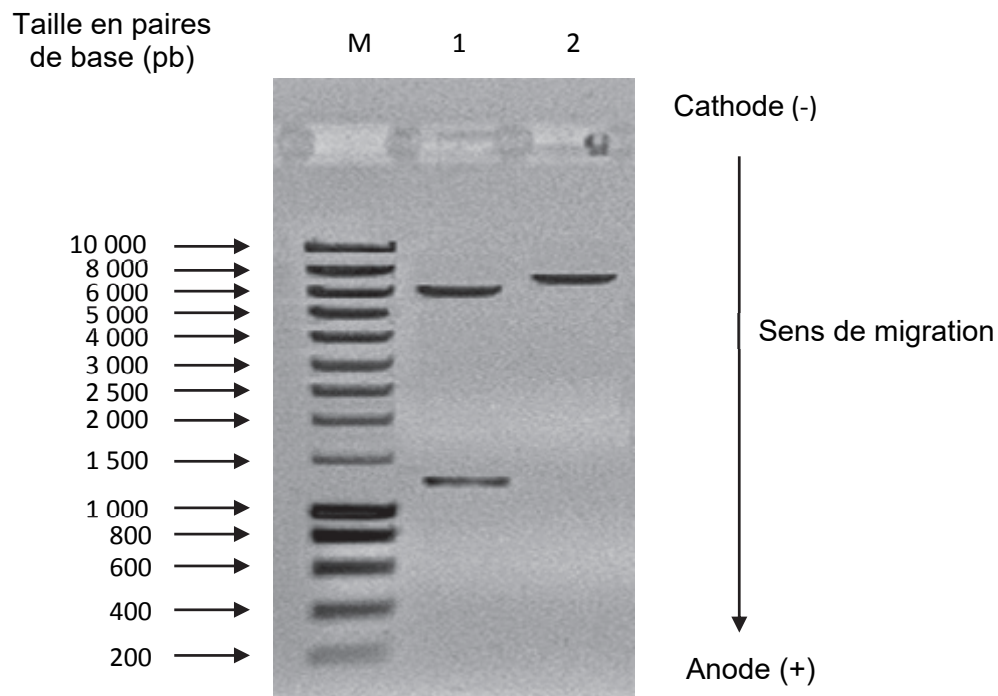
DOCUMENT 6 : Carte simplifiée du plasmide pBArsLuxAB



Parmi les éléments caractéristiques de ce plasmide, il y a :

- Ori : une origine de réplication ;
- Des sites de restriction qui sont les cibles d'enzymes de restriction telles que PciI ;
- AmpR : le gène de résistance à l'ampicilline ;
- pArs : un promoteur inductible par l'arsenic ;
- LuxA et LuxB : deux gènes permettant la synthèse de deux chaînes polypeptidiques qui s'associent pour former une protéine dimérique : la luciférase. Cette dernière catalyse une réaction qui émet de la lumière lorsqu'elle est active.

DOCUMENT 7 : Électrophorégramme du produit de digestion plasmidique par PciI



Piste M : marqueurs de masse moléculaire

Piste 1 : produit de digestion par PciI du plasmide extrait d'une colonie

Piste 2 : produit de digestion par PciI du plasmide pBLuxAB

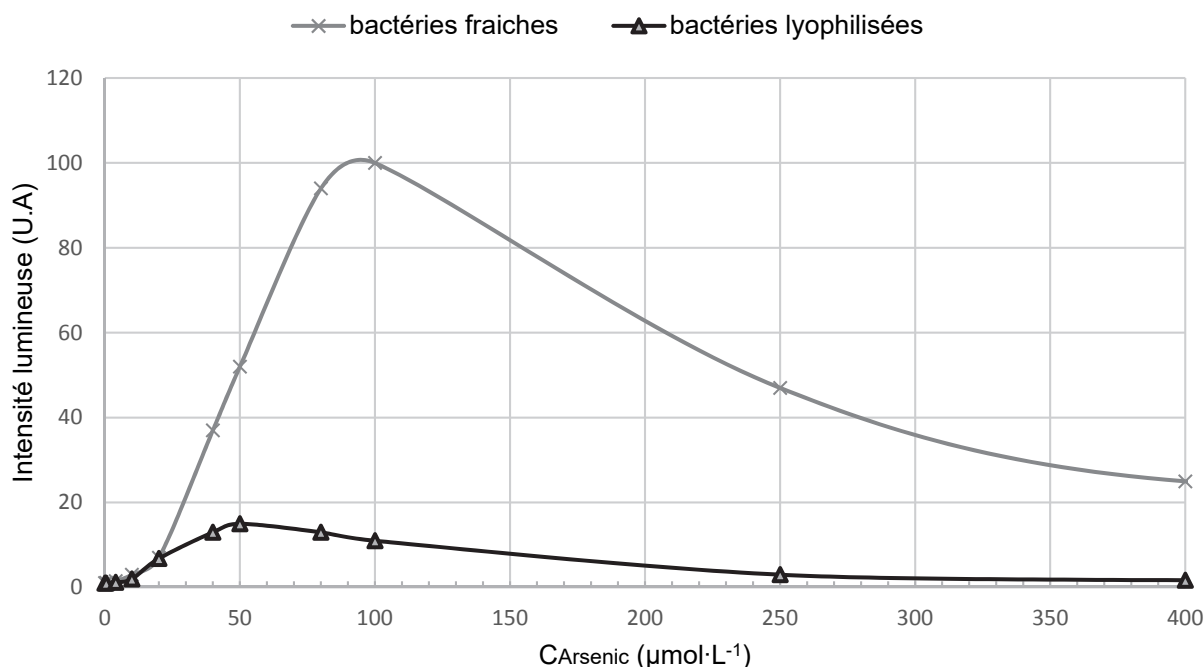
DOCUMENT 8 – Détermination de la bioluminescence émise par les bactéries sélectionnées

• Procédure opératoire

Étape	Test avec bactéries fraîchement ensemencées	Test avec bactéries lyophilisées	Étape
1	À partir d'une suspension bactérienne		1
2	Dépôt de 100 μL de la suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance à $D_{620\text{ nm}} = 0,075$ dans chaque puits d'une microplaque		2
		Congélation puis lyophilisation	2'
		Réhydratation par 100 μL d'eau distillée stérile et revivification 30 minutes	2''
3	Ajout de 25 μL de l'échantillon à tester et incubation une heure		3
4	Lecture de la bioluminescence		4

• Résultats expérimentaux

Réponse de la bactérie *E. coli* transformée à des concentrations croissantes d'arsenic



Un résultat est considéré comme satisfaisant lorsque l'intensité lumineuse est supérieure à 20 U.A.

U. A. = unité arbitraire

DOCUMENT 9 : utilisations des OGM, risques associés et régulation

Les organismes génétiquement modifiés (OGM)

Ministère de la transition écologique et de la cohésion des territoires, rubrique « politiques publiques », 22 septembre 2022 (consulté le 14 11 2023)

- Les différentes utilisations des OGM

L'utilisation la plus connue des OGM est dans le domaine agricole, avec en particulier l'utilisation de plantes ou d'animaux génétiquement modifiés. Cependant, les OGM sont également largement utilisés pour :

- la recherche fondamentale pour mieux comprendre certains mécanismes biologiques ;
- l'industrie, afin par exemple de produire certaines molécules d'intérêt ;
- la santé, où des micro-organismes OGM sont utilisés pour la production de vaccins ou de médicaments (insuline par exemple) ou encore comme vecteur pour des thérapies géniques.

- Risques associés

- Risques sanitaires

À ce jour, la consommation d'OGM n'a pas provoqué d'effets indésirables connus sur la santé humaine. (...)

- Risques environnementaux

La culture d'OGM de manière non contrôlée comporte des risques environnementaux significatifs. (...) Les plantes génétiquement modifiées peuvent se croiser avec des variétés sauvages et disséminer leurs gènes de manière incontrôlée dans la nature. (...) Les plantes génétiquement modifiées qui produisent une protéine insecticide peuvent ne pas être nocives uniquement pour les insectes nuisibles mais peuvent aussi affecter d'autres espèces d'insectes qui jouent un rôle dans l'équilibre écologique global (...).

OGM : le cadre réglementaire

Site du ministère de l'agriculture, et de la souveraineté alimentaire, rubrique « Info + » du 3 janvier 2023, consulté le 14 11 2023

La réglementation européenne prévoit qu'un OGM ne peut être mis sur le marché ou disséminé dans l'environnement sans autorisation préalable. Cette autorisation ne peut être délivrée qu'après une évaluation au cas par cas des risques pour la santé et l'environnement. Les OGM autorisés sur le marché sont soumis à une surveillance, une traçabilité et un étiquetage. (...)

- Procédure d'autorisation des essais au champ de plantes génétiquement modifiées

La procédure d'autorisation des essais au champ de plantes génétiquement modifiées est une procédure nationale dont les principes sont fixés au niveau européen (...).

Les autorisations ne peuvent être délivrées qu'après évaluation par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) et après accord du ministre chargé de l'environnement.

OGM – Autorisation, déclaration, agrément et registre d'auto-évaluation

Site du Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche rubrique « pratiques de recherche réglementées », publié le 27.07 2022 (consulté le 14 11 2023)

Toute utilisation confinée d'OGM doit faire l'objet d'une demande d'autorisation ou d'une déclaration au ministère chargé de la recherche. Les dossiers comportent deux parties :

- 1- Agrément des installations ;
- 2- Demande d'autorisation ou déclaration.

(...) Dans une installation agréée, de nouvelles utilisations confinées de classe 1 (risque nul ou négligeable) peuvent être entreprises sans réitérer de déclaration.