

Annales du Brevet de Technicien Supérieur

BIOTECHNOLOGIES

2014-2015

Éditions UPBM-ÉDILION

Les Annales du BTS **Biotechnologies Sessions 2014-2015** ont été réalisées par Sylvain André, Laurent Desfarges, Sandrine Doucet et Marie Pantaloni.

Nous remercions les collègues qui ont bien voulu collaborer à la réalisation de ces annales, en collectant des sujets ou en rédigeant des corrigés.

Des erreurs se sont, sans aucun doute, glissées dans les textes. Veuillez nous en excuser et n'hésitez pas à nous les signaler. Des correctifs pourront alors être diffusés sur le site de l'UPBM. (<http://www.upbm.org>)

« Les remarques des fautes d'un ouvrage se feront avec modestie et civilité, et la correction en sera soufferte de la mesme sorte » (Statuts & Reglemens de l'Academie française du 22 février 1635, art. XXXIV).

Illustration de couverture :

Bioréacteur de 5 L, prêt pour une activité technologique de microbiologie – génie fermentaire. Photo Sylvain André

ISBN 978-2-910069-79-7



Éditions UPBM – ÉDILION Lycée la Martinière – Duchère
Avenue Andreï Sakharov – 69338 LYON Cedex 9
Tous droits réservés.

Table des matières

BTS Biotechnologies : Définition de la nature des épreuves.....	4
Session 2014 : Sujets et éléments de corrigé.....	5
2014 – U11: Mathématiques.....	6
2014 – U12: Sciences physiques et chimiques.....	11
2014 – U2: Biologie moléculaire et génie génétique.....	16
2014 – U3: Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines.....	24
2014 – U41 : Microbiologie et génie fermentaire.....	32
2014 – U42 : Biologie cellulaire.....	39
2014 – ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ.....	46
U11 : Mathématiques.....	47
U12 : Sciences physiques et chimiques.....	52
U2 : Biologie moléculaire et génie génétique.....	56
U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines.....	61
U41 : Microbiologie et génie fermentaire.....	65
U42 : Biologie cellulaire.....	68
Session 2015 : Sujets et éléments de corrigé.....	72
2015 – U11 : Mathématiques.....	73
2015 – U12 : Sciences physiques et chimiques.....	79
2015 – U2 : Biologie moléculaire et génie génétique.....	87
2015 – U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines.....	93
2015 – U41 : Microbiologie et génie fermentaire.....	100
2015 – U42 : Biologie cellulaire.....	106
2015 – ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ.....	113
U11: Mathématiques.....	114
U12 : Sciences physiques et chimiques.....	119
U2 : Biologie moléculaire et génie génétique.....	123
U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines.....	127
U41 : Microbiologie et génie fermentaire.....	131
U42 : Biologie cellulaire.....	137
Travaux pratiques de biotechnologies.....	141
U51 : TP de biologie moléculaire et génie génétique.....	142
U52 : TP de biochimie structurale et fonctionnelle des protéines.....	144
U53 : TP de microbiologie – génie fermentaire.....	146
U54 : TP de biologie et technologies cellulaires.....	148
U6 : Rapport de stage et soutenance.....	150
PUBLICATIONS DE L'UPBM.....	152

BTS Biotechnologies : Définition de la nature des épreuves

TABLEAU DES ÉPREUVES

Désignation		Coefficients	Nature de l'épreuve	Durée
<i>Épreuves écrites</i>				
E1 : mathématiques et sciences physico-chimiques	Mathématiques	1	écrite	2 h
	Sciences physiques et chimiques	1	écrite	2 h
E 2 : biologie moléculaire et génie génétique		1	écrite	2 h
E 3 : biochimie structurale et fonctionnelle des protéines		1	écrite	2 h
E4 : Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Microbiologie et génie fermentaire	1	écrite	2 h
	Biologie cellulaire	1	écrite	2 h
<i>Épreuves pratiques</i>				
E5 : travaux pratiques de biotechnologies :	Biologie moléculaire et génie génétique	1	CCF / ponctuelle	2 x 3h
	Biochimie des protéines	1	CCF / ponctuelle	2 x 3h
	Microbiologie et génie fermentaire	1	CCF / ponctuelle	2 x 3h
	Biologie cellulaire	1	CCF / ponctuelle	2 x 3h
<i>Épreuves orales</i>				
Rapport de stage et soutenance		4	Orale	50 min
TOTAL				
<i>Épreuve facultative</i>				
Langue vivante étrangère (épreuve orale, seuls les points au dessus de la moyenne sont pris en compte)		1	Orale	20 min

Session 2014 : Sujets et éléments de corrigé

2014 – U11: Mathématiques

Durée 2 h – coefficient 1

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.

L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé. Le formulaire de mathématiques est joint au sujet. La calculatrice (conforme à la circulaire n°99-186 du 16-11-99) est autorisée.

EXERCICE 1 (10 points)

Une société agroalimentaire produit des plats cuisinés. Elle utilise pour cela des pièces de viande de 2 kg initialement congelées à une température de -21°C . On considère par la suite que les pièces de viande sont identiques.

Lors de la décongélation, les pièces de viande sont placées dans une zone d'un réfrigérateur maintenue à une température constante de $T^{\circ}\text{C}$. L'entreprise doit respecter des contraintes sanitaires et des contraintes liées à la qualité gustative des produits qu'elle fabrique.

Elle mène pour cela une étude sur l'évolution de la température au cœur d'une pièce de viande au cours de la décongélation.

La loi de refroidissement de Newton permet théoriquement, sous certaines conditions, de modéliser cette évolution, en fonction du temps, par une fonction θ vérifiant :

$$\theta'(t) = k(\theta(t) - T) \quad (E)$$

où

- k est une constante liée aux caractéristiques de la pièce de viande,
- T est la température de la zone du réfrigérateur dans laquelle est placée la viande,
- t est la durée, exprimée en heure, écoulée depuis le début de la décongélation
- $\theta'(t)$ est la température, exprimée en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$), au cœur de la pièce de viande après t heures de décongélation.

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Détermination de la constante k

Le réglage standard d'un réfrigérateur domestique est de $T = 5^{\circ}\text{C}$.

On place une des pièces de viande dans une zone du réfrigérateur maintenue à cette température.

L'évolution de la température au cœur de la pièce de viande est suivie à l'aide de sondes thermocouples et mène aux relevés suivants :

i	1	2	3	4	5	6
t_i : durée écoulée, en heures	0	5	10	15	20	25
θ_i : température en degrés Celsius	- 21	- 5,1	1,1	3,5	4,4	4,8

1. On pose $z_i = \ln(5 - \theta_i)$. Donner les valeurs de z_i pour i variant de 1 à 6. Arrondir au centième.
2. Donner une équation de la droite d'ajustement affine de z en t par la méthode des moindres carrés sous la forme $z = at + b$. Arrondir au centième les valeurs de a et b .
3. En déduire que l'on peut estimer la température au cœur de la pièce de viande après t heures (t compris entre 0 et 25) par :

$$\theta(t) = -26,58 e^{-0,19t} + 5$$

4. Calculer $\theta(t)$ et $\theta(t)-5$.

Justifier que le modèle de l'équation (E) (donnée dans le préambule de l'exercice) s'applique dans le cas présent avec des constantes k et T dont on donnera les valeurs.

PARTIE B : Durée de décongélation

On considère qu'une pièce de viande est décongelée lorsque la température au cœur de la viande est supérieure ou égale à 0°C .

Une viande décongelée donne, lorsqu'on la consomme après cuisson, l'illusion du produit frais si sa décongélation a duré **au moins 12 heures**.

L'ajustement effectué dans la partie A permet d'estimer qu'une pièce de viande de 2 kg décongèle dans une zone du réfrigérateur maintenue à $T = 5^\circ\text{C}$ en 8h 50 min, ce qui ne convient pas.

Par souci de **qualité gustative**, la société agro alimentaire décide donc de décongeler plus lentement la viande en la plaçant dans une zone plus froide du réfrigérateur. Par ailleurs, si on décongèle une pièce de viande à une température supérieure à 2°C , il y a reprise de la prolifération de certaines bactéries.

On choisit donc $T = 2^\circ\text{C}$.

D'après la loi de Newton, la température de la pièce de viande est modélisée par une fonction θ vérifiant :

$$\theta'(t) = -0,19(\theta(t) - 2), \text{ c'est à dire } \theta'(t) + 0,19.\theta(t) = 0,38.$$

1. Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E) : $y' + 0,19y = 0,38$, où y est une fonction de la variable t , définie et dérivable sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ et y' la fonction dérivée de la fonction y .

- a) Déterminer les solutions sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ de l'équation différentielle $(E_0) : y' + 0,19y = 0$

- b) Soit h la fonction définie sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ par $h(t) = c$, où c est un nombre réel. Déterminer le nombre réel c pour que la fonction h soit une solution particulière de l'équation différentielle (E).

c) En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).

2. Détermination de la fonction θ

On rappelle que θ est solution de l'équation (E) et que $\theta(0) = -21$.

a) Justifier que : $\theta'(t) = -23 e^{-0,19t} + 2$

b) Déterminer $\lim_{t \rightarrow +\infty} \theta(t)$. Interpréter le résultat obtenu dans le contexte concret étudié.

3. Durée de décongélation

a) Estimer le temps nécessaire pour que les pièces de viande, placées dans une zone du réfrigérateur maintenue à $T = 2^\circ\text{C}$, soient décongelées.

Plusieurs méthodes peuvent être employées. Le candidat devra indiquer celle qu'il a choisie et en donner les étapes.

b) La viande ainsi décongelée donnera-t-elle, lorsqu'on la consommera, l'illusion du produit frais ?

PARTIE C : Prise en compte de la réglementation sanitaire

Initialement, la concentration bactérienne dans les pièces de viande congelées utilisées par la société agroalimentaire est estimée à 50 bactéries par gramme.

On admet qu'à partir du moment où la viande est décongelée, les bactéries reprennent leur prolifération et que, tant que la viande est laissée dans une zone du réfrigérateur maintenue à 2°C , la vitesse de croissance de la concentration bactérienne à l'instant t (exprimé en heure) est modélisée sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ par $v(t) = 3e^{0,06t}$

La concentration bactérienne (exprimée en bactéries par gramme) de la viande à l'instant test donc modélisée par la primitive G_0 de la fonction v qui vérifie $G_0(0) = 50$.

1. Détermination de la fonction G_0

a) Déterminer les primitives G de la fonction v .

b) En déduire l'expression de $G_0(t)$ pour t supérieur ou égal à 0.

2. Le niveau de tolérance fixé par la réglementation sanitaire de plusieurs pays est de 100 bactéries par gramme pour la viande que l'on cuisine.

Un lot de pièces de viande termine sa décongélation à 18 h, un soir de la semaine.

Si les employés le laissent au réfrigérateur, à 2°C , et ne le cuisinent que le lendemain à 8 h, la réglementation sanitaire de ces pays sera-t-elle respectée ?

EXERCICE 2 (10 points)

Les probabilités demandées dans cet exercice peuvent être calculées en utilisant le formulaire joint au sujet ou la calculatrice. Quelle que soit l'option retenue on fera figurer sur la copie **les étapes de la démarche suivie**.

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

Une usine fabrique en série des pompes de surface destinées à l'irrigation agricole.

Le cahier des charges demande que ces pompes aient un débit de $6 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (6 mètres cubes par heure) avec une tolérance de $\pm 0,25 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

En sortie de chaîne de fabrication, une pompe peut présenter deux types de défauts indépendants : un défaut de débit et un défaut mécanique.

PARTIE A : Le défaut mécanique

Une étude statistique permet d'estimer que 1 % des pompes fabriquées présente un défaut mécanique.

Les pompes sont conditionnées par caisses de cinquante.

On considère, pour l'étude, que la constitution d'une caisse peut être assimilée à un prélèvement au hasard et avec remise de cinquante pompes dans la production, très importante, de l'usine.

On note X la variable aléatoire qui, à chaque caisse de cinquante pompes, associe le nombre de pompes présentant un défaut mécanique.

- Justifier que X suit une loi binomiale et préciser les paramètres de cette loi.
- Calculer la probabilité qu'une caisse contienne une pompe présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.
 - Calculer la probabilité qu'une caisse contienne au moins deux pompes présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.
- On décide d'approcher la loi de X par une loi de Poisson de paramètre λ .
 - Quelle valeur du paramètre λ choisit-on ? Justifier.
 - On note Y une variable aléatoire suivant une loi de Poisson de paramètre λ . En utilisant la variable aléatoire λ , estimer la probabilité qu'une caisse contienne au moins quatre pompes présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.

PARTIE B : Le défaut de débit

Une pompe est conforme au cahier des charges pour le débit si celui-ci est compris entre $5,75 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ et $6,25 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Dans le cas contraire, la pompe présente un défaut de débit. On note Z la variable aléatoire qui associe à chaque pompe produite son débit exprimé en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. On suppose que la Variable aléatoire Z suit une loi normale de moyenne $m = 6$ et d'écart type $s = 0,15$.

Calculer la probabilité qu'une pompe, prélevée au hasard dans la production, présente un défaut de débit. Arrondir le résultat au millième.

PARTIE C : Estimation du débit moyen des pompes d'une livraison

Une entreprise commande un nombre important de pompes.

Lors de la livraison, le service qualité de l'entreprise cherche à estimer la moyenne inconnue μ exprimée en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, des débits des pompes qui lui sont livrées à partir de mesures faites sur un échantillon de cinquante pompes prises dans la livraison.

On considère que cet échantillon peut être assimilé à un prélèvement au hasard et avec remise de cinquante pompes dans la livraison.

1. Les résultats des mesures effectuées sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Débit en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$	5,7	5,8	5,9	6,0	6,1	6,2	6,3
Nombre de pompes	9	8	10	9	10	3	1

Calculer la moyenne et l'écart type de la série de mesures ci-dessus. On arrondira l'écart-type au millième.

2. On note \bar{X} la variable aléatoire qui, à chaque échantillon de 50 pompes choisies au hasard dans la livraison, associe la moyenne des débits de ces 50 pompes, exprimée en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

On admet que \bar{X} suit la loi normale de moyenne inconnue μ et d'écart type $\frac{0,16}{\sqrt{50}}$

a) Déterminer un nombre a tel que $P(\mu - a \leq \bar{X} \leq \mu + a) = 0,95$

Donner une valeur approchée au millième par excès de a .

b) Donner un intervalle de confiance de la moyenne μ , des débits des pompes livrées avec un coefficient de confiance supérieur ou égal à 95% .

2014 – U12: Sciences physiques et chimiques

Durée 2 h – coefficient 1

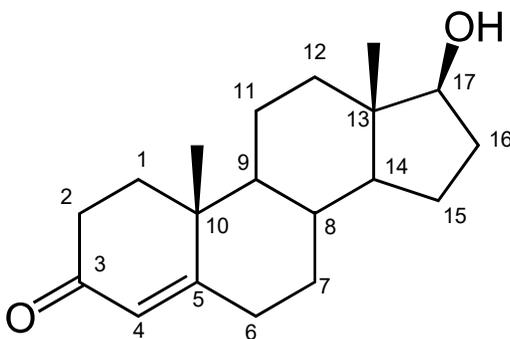
Calculatrice autorisée.

La correction de l'épreuve tiendra le plus grand compte de la clarté dans la conduite de la résolution et dans la rédaction de l'énoncé des lois, de la comptabilité de la précision et des résultats numériques avec celle des données de l'énoncé (nombre de chiffres significatifs), du soin apporté aux représentations graphiques éventuelles et de la qualité de la langue française dans son emploi scientifique.

1. CHIMIE ORGANIQUE (16 points)

Les parties 1 et 2 sont indépendantes

1.1. La molécule de testostérone, représentée ci-contre, contient 6 atomes de carbone asymétriques.



1.1.1. Qu'est-ce qu'un atome de carbone asymétrique ?

1.1.2. Donner les numéros de quatre atomes de carbone asymétriques de la molécule de testostérone.

1.1.3. Donner le nombre maximal de stéréoisomères d'une molécule comportant 6 atomes de carbone asymétriques.

1.1.4. Dans le cadre de la lutte contre le dopage, on dose le rapport testostérone / épitestostérone. Ces deux molécules diffèrent entre elles par la seule configuration du carbone numéro 17.

Indiquer si ces deux molécules sont énantiomères. Justifier.

1.2. On étudie une synthèse de l'éthylbenzène.

1.2.1. Écrire la formule semi-développée de l'éthanal. À quelle famille de composés organiques l'éthanal appartient-il ?

1.2.2. À partir de l'éthanal, on peut obtenir un acide carboxylique comportant le même nombre d'atomes de carbone.

1.2.2.1 Donner le type de réaction.*

1.2.2.2 Donner le nom et la formule semi-développée de cet acide carboxylique A.

1.2.3. Par action d'un agent chlorurant sur A on fabrique ensuite le chlorure d'éthanoyle B (ou chlorure d'acétyle).

1.2.3.1 Écrire la formule semi-développée de B.

1.2.3.2 Proposer la formule brute d'un agent chlorurant.

1.2.4. On réalise ensuite l'acylation du benzène par le composé B, on obtient le composé C.

1.2.4.1 De quel type de réaction s'agit-il ?

- 1.2.4.2 Quel catalyseur peut-on utiliser ?
- 1.2.4.3 Écrire l'équation de la réaction.
- 1.2.4.4 Le mécanisme réactionnel fait intervenir un ion qui attaque le cycle benzénique.
Écrire la formule semi-développée de cet ion.
- 1.2.4.5 Quelle est la fonction chimique caractéristique du composé C ?
- 1.2.5. Une réduction de Clemmensen conduit ensuite à l'éthylbenzène D.
Écrire la formule semi-développée de D.

2. CHIMIE GENERALE (16 points)

Les deux parties sont indépendantes

2.1. L'ion cyanure

CN^- est la base conjuguée de l'acide cyanhydrique HCN. Le pKa de ce couple vaut 9,3.

- 2.1.1. Donner le schéma de Lewis de la molécule d'acide cyanhydrique.

Données : numéro atomique : $Z(\text{H}) = 1$, $Z(\text{C}) = 6$, $Z(\text{N}) = 7$

- 2.1.2. L'ion cyanure est utilisé dans le procédé de lixiviation de l'or, qui permet sa récupération par mise en œuvre d'une solution aqueuse de cyanure de sodium. Pour éviter tout dégagement de gaz toxique (cyanure d'hydrogène), le pH est maintenu à 10,5.

Calculer le rapport $\frac{[\text{HCN}(\text{aq})]}{[\text{CN}^-(\text{aq})]}$ dans la solution. Commenter le résultat.

- 2.1.3. La destruction des ions cyanure fait intervenir leur oxydation en ions cyanate CNO^- .

2.1.3.1 Écrire la demi-équation électronique correspondant à cette oxydation en milieu acide.

2.1.3.2 En faisant intervenir des ions hydroxyde, établir la demi-équation électronique dans le milieu basique réellement utilisé.

2.2. Deux ions cyanure

CN^- jouant le rôle de ligands autour d'un ion argent (I) peuvent former un complexe, l'ion dicyanoargentate (I).

- 2.2.1. Écrire l'équation de la réaction de formation du complexe.

2.2.2. Exprimer la constante de formation K_F de ce complexe.

- 2.2.3. Dans une solution aqueuse de nitrate d'argent ($\text{Ag}^+(\text{aq}) + \text{NO}_3^-(\text{aq})$) de concentration molaire $C_1 = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on ajoute sans variation de volume des ions cyanure. La concentration initiale des ions cyanure dans le mélange est $[\text{CN}^-(\text{aq})]_0 = 3,0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Une électrode d'argent plongée dans le mélange a pour potentiel redox :

$$E(\text{Ag}^+(\text{aq})/\text{Ag}(\text{s})) = -0,28 \text{ V}.$$

- 2.2.3.1 Écrire la demi-équation électronique associée au couple $\text{Ag}^+(\text{aq})/\text{Ag}(\text{s})$.

2.2.3.2 Montrer que la concentration molaire en ions argent (I) à l'équilibre vaut $1,0 \times 10^{-18} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Données :

$$E^\circ(\text{Ag}^+(\text{aq})/\text{Ag}(\text{s})) = 0,80 \text{ V} \quad \text{et} \quad \frac{RT}{F} \cdot \ln x = 0,06 \cdot \log x$$

2.2.3.3 À l'aide d'un tableau d'avancement, calculer la concentration à l'équilibre des ions complexes formés et des ions cyanure restants.

2.2.3.4 En déduire la valeur de K_F .

3. VISCOSIMETRIE ET OPTIQUE (18 points)

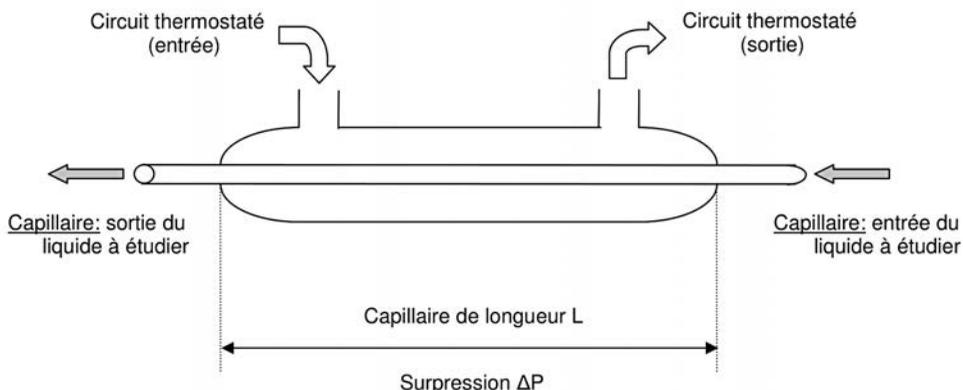
Les parties 1 et 2 sont totalement indépendantes

3.1. Mesure de la viscosité d'un échantillon sanguin

Un laboratoire est équipé d'un viscosimètre à capillaire.

Le liquide à étudier (de viscosité dynamique η) circule dans un capillaire de diamètre D et de longueur L sous l'action d'une surpression ΔP appliquée aux extrémités du capillaire à l'aide d'un dispositif annexe.

Le débit volumique (unité SI : $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) du liquide dans le capillaire sera noté Q_V .



3.1.1. Le capillaire est thermostaté par circulation d'eau provenant d'un bain extérieur.

Pourquoi cette précaution est-elle indispensable ?

3.1.2. Pour un capillaire aux dimensions fixées, soumis à une surpression constante, faut-il s'attendre à une augmentation ou à une diminution du débit volumique lorsque la viscosité du liquide étudié augmente ? Justifier succinctement.

3.1.3. Si l'écoulement est laminaire, la loi de Poiseuille peut s'appliquer :

$$Q_V = \frac{\pi \cdot D^4}{128 \cdot \eta \cdot L} \cdot \Delta P$$

La surpression ΔP a pour unité SI le pascal (Pa) : $1 \text{ Pa} = 1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-2}$.

Exprimer l'unité SI de la viscosité dynamique η appelée poiseuille (Pl) en fonction des unités de base kg, m et s.

- 3.1.4. Une technicienne réalise un essai à 30 °C, en faisant circuler de l'eau dans le capillaire. Elle mesure le débit volumique Q_V pour différentes valeurs de la surpression ΔP .

L'évolution de Q_V en fonction de ΔP est représentée en **feuille annexe page 6**. Elle a également effectué une régression linéaire qui est indiquée à côté de la courbe. La courbe obtenue est-elle en accord avec la loi de Poiseuille ? Pourquoi ?

- 3.1.5. En utilisant la loi de Poiseuille, calculer le diamètre du capillaire.

Données : $L = 400 \text{ mm}$ et $\eta_{\text{EAU}} (30 \text{ °C}) = 0,798 \times 10^{-3} \text{ Pl}$

- 3.1.6. Ayant ainsi déterminé le diamètre du capillaire, la technicienne y fait alors circuler un échantillon sanguin à 37 °C.

À l'aide d'un chronomètre, elle constate qu'il lui faut 203 s pour recueillir 1,00 mL de liquide en sortie de capillaire, lorsqu'elle applique une surpression de 12,5 kPa. On admet que la loi de Poiseuille reste vérifiée.

- 3.1.6.1 Calculer le débit volumique.

- 3.1.6.2 En déduire que la valeur de la viscosité $\eta_{\text{échantillon}}$ vaut 4,0 mPl à 37 °C.

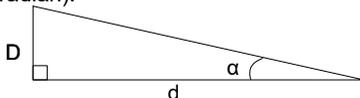
Données : $L = 400 \text{ mm}$ et $D = 0,40 \text{ mm}$

3.2. Contrôle optique

Après nettoyage du capillaire, la technicienne effectue un premier contrôle de propreté en l'observant à l'œil nu, à une distance $d = 25 \text{ cm}$.

- 3.2.1. Calculer (en radian) la valeur de l'angle α sous lequel la technicienne voit le capillaire de diamètre $D = 0,40 \text{ mm}$.

On s'aidera du schéma ci-dessous réalisé sans souci d'échelle, en considérant que $\tan \alpha \approx \alpha$ (radian).



- 3.2.2. Comparer la valeur de l'angle α au pouvoir de résolution de l'œil humain égal à 0,3 mrad et conclure.

- 3.2.3. La technicienne effectue ensuite un contrôle à l'aide d'une loupe assimilable à une lentille mince.

Calculer en centimètres la distance focale de cette lentille de vergence 12 dioptries .

- 3.2.4. Comment faut-il positionner le capillaire par rapport à la loupe pour que celle-ci en donne une image virtuelle ?

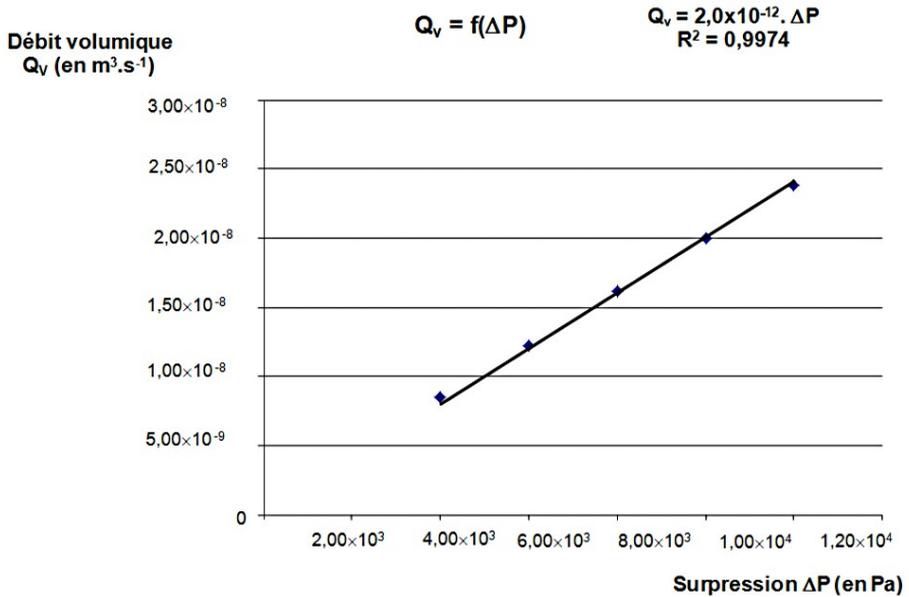
- 3.2.5. Dans le cas de l'observation de l'image à l'infini représenter sur un schéma, sans souci d'échelle, la lentille, son axe optique et le capillaire AB (A étant sur l'axe optique).

Compléter le schéma en traçant le trajet de deux rayons lumineux issus de B.

- 3.2.6. Dans le cas d'une observation à l'infini, calculer (en radian) la valeur de l'angle α sous lequel la technicienne observe le capillaire à travers la loupe.
- 3.2.7. Dédire des questions 2.1. et 2.6. la valeur du grossissement de cette loupe.

Annexe

Mesure de la viscosité d'un échantillon sanguin



2014 – U2: Biologie moléculaire et génie génétique

Durée 2 h – coefficient 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice est interdite

Expression spatio-temporelle des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* au cours du développement

Les gènes *lin-28 homolog A (Lin 28a)* et *lin-28 homolog B (Lin 28b)* jouent un rôle important dans le contrôle du développement embryonnaire, notamment en régulant la maturation de certains microARN.

Pour étudier le profil d'expression spatio-temporelle des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* au cours de l'embryogenèse, un laboratoire met au point une procédure de production de sondes « ARN simple brin » spécifiques des transcrits de ces deux gènes.

Le modèle animal choisi, un amphibien, le Xénope, exprime les gènes *lin 28* et permet une étude des régulations de l'expression du génome au cours de l'embryogenèse précoce.

Les sondes ARN spécifiques des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* sont obtenues en plusieurs étapes :

- Extraction des ARN totaux à partir d'embryons de Xénope.
- Synthèse d'ADNc par rétrotranscription (RT) des ARN extraits.
- Amplification spécifique des ADNc *Lin28a* et *Lin28b* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR).
- Clonage des ADNc *Lin28a* et *Lin28b* dans un vecteur d'expression pCS2 plus.
- Synthèse de ribosondes *Lin28a* et *Lin28b* marquées à la digoxygénine.

Les sondes ARN *Lin28a* et *Lin28b* marquées (ou ribosondes *Lin28a* et *Lin28b*) permettront alors de révéler par hybridation *in situ* les transcrits des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* dans des embryons entiers de Xénope, à différents stades de développement.

Les stades de développement du Xénope ont été nommés et classés en 66 stades (NF1 à NF66). Le stade NF1 correspond au stade « une cellule » juste après la fécondation et le stade NF 66 correspond à une grenouille juvénile.

1. Obtention des ADNc spécifiques des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* (10 points)

Les ADNc sont obtenus par rétrotranscription des ARN extraits d'embryons de Xénope, puis amplification spécifique des ADNc *Lin 28a* et *Lin28b* par PCR.

1.1. Extraction, purification et analyse des ARN totaux cellulaires (document 1)

L'extraction des ARN totaux est réalisée à partir d'embryons de Xénope au stade NF25 en utilisant le kit « Extract-all ® » du laboratoire Eurobio (document 1a).

- 1.1.1.** Nommer les trois principaux types d'ARN cellulaires et rappeler le rôle de chacun d'eux.
- 1.1.2.** Préciser, en les justifiant, les précautions opératoires à prendre pour obtenir des ARN de bonne qualité lors de leur extraction.
- 1.1.3.** A partir du **document 1a** construire un tableau présentant les différentes étapes de l'extraction, les différents réactifs repérés en gras ainsi que leurs rôles respectifs.
- L'extraction est suivie d'une analyse qualitative de l'extrait par électrophorèse microcapillaire à pH 8 (**document 1b**).
- 1.1.4.** Expliquer le principe d'une électrophorèse d'acide nucléique en gel d'agarose.
- 1.1.5.** Proposer un exemple de molécule révélatrice des acides nucléiques après électrophorèse. Préciser son mode d'action.
- 1.1.6.** Analyser l'électrophorégramme du **document 1b** et conclure quant à la qualité de l'extrait d'ARN.

1.2. Synthèse d'ADNc par rétrotranscription des ARN extraits

Le protocole de la rétrotranscription des ARN est décrit dans le **document 2**

- 1.2.1.** Expliquer le rôle des réactifs « Reverse Transcriptase » et « Oligo (dT)₁₈ ».
- 1.2.2.** Indiquer l'intérêt de l'incubation à 65°C décrite au point 2 du protocole.
- 1.2.3.** Calculer le volume de chacun des réactifs utilisés au point 3 du protocole.

1.3. Amplification spécifique des ADNc *Lin28a* et *Lin28b* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (**document 3**)

Les ADNc obtenus par rétrotranscription sont utilisés comme matrice pour effectuer deux PCR : une qui amplifie spécifiquement les ADNc du gène *Lin 28a* et une autre qui amplifie spécifiquement les ADNc du gène *Lin 28b*.

Les amorces sont définies de manière à insérer des sites pour des enzymes de restriction utiles pour un futur clonage des produits PCR dans un vecteur d'expression.

Les produits des deux PCR sont purifiés et analysés par électrophorèse en gel d'agarose.

- 1.3.1.** Rappeler les caractéristiques de l'enzyme utilisée pour réaliser une PCR et la réaction qu'elle catalyse.
- 1.3.2.** Réaliser un schéma annoté des deux premiers cycles de la PCR « *Lin 28 a* » en précisant l'hybridation des amorces sens et antisens ainsi que la localisation des sites de restriction *Bam*HI et *Xba*I.

1.3.3. Analyser l'électrophorégramme des produits de PCR. Valider la spécificité de chaque PCR.

2. Obtention des ribosondes marquées après transcription *in vitro* (5 points)

Les ADNc double brins spécifiques des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* sont clonés dans un vecteur d'expression. Les vecteurs recombinés ainsi obtenus sont alors utilisés pour synthétiser les ribosondes par transcription *in vitro*.

2.1. Clonage moléculaire des ADNc *Lin 28a* et *Lin 28b*

Les ADNc *Lin 28a* et *Lin 28b* sont intégrés dans le vecteur d'expression « pCS2 plus » (**document 4**). Des bactéries, *Escherichia.coli* chimio-compétentes sensibles à l'ampicilline sont ensuite transformées, par choc thermique, par les vecteurs potentiellement recombinés.

2.1.1. Décrire les différentes étapes de ce clonage dans le cas de l'ADNc *Lin 28a*.

2.1.2. Proposer un milieu gélosé permettant de sélectionner les colonies de transformants. Justifier la réponse.

2.1.3. Proposer une manipulation permettant de repérer les clones positifs parmi les colonies de transformants.

2.2. Synthèse de ribosondes *Lin 28a* et *Lin 28b* marquées à la digoxygénine.

Les clones positifs pour *Lin28a* et *Lin28b* sont respectivement cultivés. Puis l'ADN plasmidique recombiné est extrait, purifié et linéarisé par digestion enzymatique.

Les sondes ARN sont alors synthétisées par transcription *in vitro* des plasmides recombinés et linéarisés, en présence de l'ARN polymérase de SP6 ou de T7, de ribonucléotides triphosphates et de digoxygénine -11- UTP.

L'ARN polymérase SP6 est utilisée pour la synthèse de sondes « sens » et l'ARN polymérase T7 est utilisée pour la synthèse de sondes « anti-sens ».

2.2.1. Rappeler le sens de la synthèse d'une molécule d'ARN par une ARN polymérase.

2.2.2. Proposer une définition du terme « promoteur ».

2.2.3. Utiliser le **document 4** pour construire un schéma du vecteur double brin recombiné et y positionner les promoteurs SP6 et T7.

Compléter le schéma en montrant la synthèse des deux types de ribosondes « sens » (en utilisant l'ARN polymérase SP6) et « anti-sens » (en utilisant l'ARN polymérase T7).

2.2.4. Indiquer la sonde qui s'hybridera avec l'ARNm cible et celle de séquence identique à l'ARNm cible.

2.2.5. Expliquer le principe du marquage des ribosondes à la digoxygénine.

3. Hybridation *in situ* sur embryons de Xénope (3 points)

La dernière étape consiste à hybrider les sondes marquées dans des embryons fixés à différents stades du développement (**document 5**).

3.1. Identifier les quatre étapes de l'hybridation *in situ* décrite dans le **document 5a**.

3.2. Proposer deux conditions opératoires permettant d'augmenter les conditions de stringence au cours de la première série de lavages.

Les hybridations *in situ* ont été réalisées avec des sondes ARN « anti-sens » de *Lin 28a* et de *Lin 28b* sur des embryons à différents stades de développement.

Pour valider l'ensemble de la procédure, des contrôles négatifs ont également été réalisés sur des embryons traités, à différents stades de développement.

Les résultats de quelques hybridations de *Lin 28b* sont fournis dans les **documents 5b et 5c**.

3.3. Rappeler le nom de la molécule cible de la sonde « anti-sens » *Lin 28b*.

3.4. Analyser l'expression spatio-temporelle du gène *Lin 28b* chez le Xénope, à partir des observations des **documents 5b** puis **5c**.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 point)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1

Extraction, purification et analyse des ARN totaux

Document 1a : EXTRACT-ALL® (Laboratoires Eurobio)

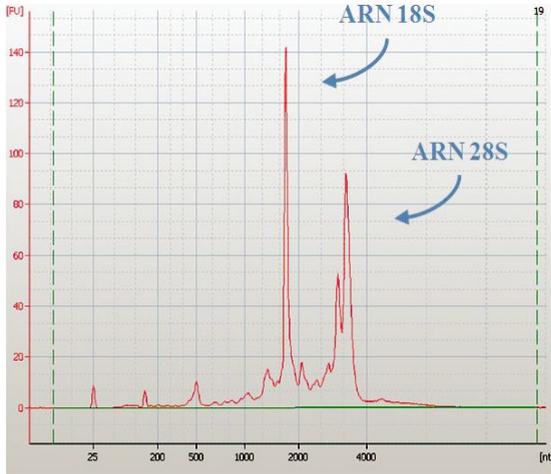
EXTRACT-ALL® is a ready to use solution for the isolation of total RNA from cells and tissues.

The reagent, a mono-phase solution of **acid phenol** and **guanidine isothiocyanate**, is an improvement to the single-step RNA isolation method developed by Chomczynski and Sacchi. During sample homogenization or lyses, EXTRACT-ALL® maintains the integrity of the RNA while disrupting cells. After addition of **chloroform** and centrifugation, two phases are separated : an aqueous phase that contains RNA and an organic phase. After transfer of the aqueous phase, the RNA are recovered by precipitation with **isopropanol**.

Document 1b : Analyse qualitative de l'extrait d'ARN par électrophorèse capillaire

Ce dispositif permet une séparation des molécules pendant la migration dans le capillaire et leur détection en sortie du capillaire.

Electrophorégramme : Intensité de fluorescence = f (nombre de nucléotides (nt))



L'analyse est réalisée à l'aide du kit "RNA 6000 nano kit" et d'un appareil "Bioanalyser 2100"

Aire du pic ARN 18S = 1353 UA
Aire du pic ARN 28S = 2841 UA
UA = unités arbitraires

Document 2**Protocol for First Strand cDNA Synthesis**

The following protocol is optimized to generate first-strand cDNA for use in two-step RT-PCR. Mix and briefly centrifuge all reagents after thawing, keep on ice.

1. Add reaction components into a sterile, nuclease-free tube on ice in the indicated order

Total RNA	1 µg
Oligo(dT) ₁₈	1 µL (100 pmol)
dNTP Mix, 10 mM each	1 µL (0.5 mM final concentration)
Water, nuclease-free	to 14,5 µL

2. Optional :

If the RNA template is GC-rich or is known to contain secondary structures, mix gently, centrifuge briefly and incubate at 65°C for 5 min. Chill on ice, briefly centrifuge again and place on ice.

3. Add the following reaction components in the indicated order :

5X RT Buffer	
RNase Inhibitor (40 U. μL^{-1})	20 U
Reverse Transcriptase (200 U. μL^{-1})	200 U
Total volume	20 μL

Mix gently and centrifuge briefly.

4. Incubate for 3 h at 46 °C.
5. Terminate the reaction by heating at 85°C for 5 minutes.

Document 3

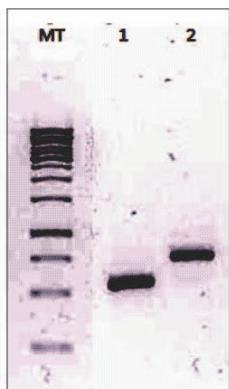
Amplification spécifique des ADNc *Lin28a* et *Lin28b* par réaction de polymérisation en chaîne

Choix des amorces :

- Les amorces choisies pour la PCR des ADNc *Lin 28a* permettent d'obtenir un amplicon de 566 pb possédant un site pour l'enzyme *Bam*HI en 5' et un site pour l'enzyme *Xba*I en 3'.
- Les amorces choisies pour la PCR des ADNc *Lin 28b* permettent d'obtenir un amplicon de 761 pb possédant un site pour l'enzyme *Bam*HI en 5' et un site pour l'enzyme *Xho*I en 3'.

Analyse qualitative des produits de PCR par électrophorèse en gel d'agarose :

Photographie du gel d'agarose (1%, TBE 0,5X) en couleur inverse.



← puits

MT : marqueur de taille « 1kb »

Indications de la fiche technique :

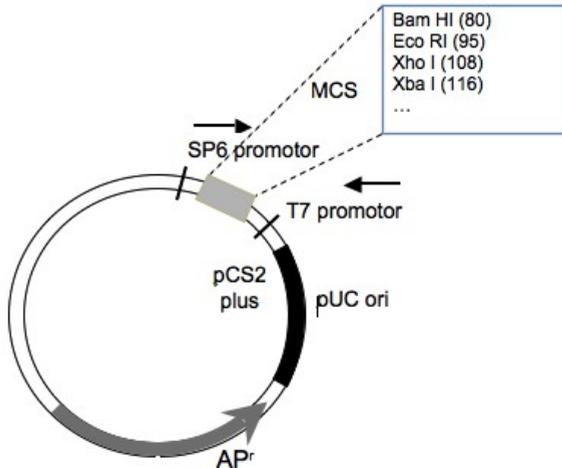
250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 5000, 6000, 8000, 10000 pb

Des bandes plus intenses sont attendues pour les fragments d'ADN dont la taille est soulignée.

Puits 1 : PCR « *Lin 28a* »

Puits 2 : PCR « *Lin 28b* »

Document 4
Schéma simplifié du vecteur d'expression « pCS2 plus »



AP^r : gène de résistance à l'ampicilline

Remarques :

- Les promoteurs SP6 et T7 sont des promoteurs phagiques forts reconnus respectivement par l'ARN polymérase de SP6 et l'ARN polymérase de T7. Ils permettent la synthèse d'ARN *in vitro* correspondant à la séquence clonée au niveau du site multiple de clonage (MCS).

- Le promoteur T7 est dans l'orientation inverse à celle du promoteur SP6.

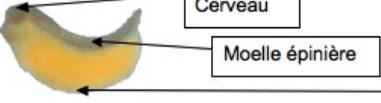
Document 5
Hybridations *in situ* pour *Lin 28b*

Document 5a : Protocole simplifié de l'hybridation *in situ* sur embryons traités

Les embryons traités sont placés 2 heures dans du tampon « HYBMIX » (contenant de l'ARN de levure) à 60°C, puis ils sont incubés avec les sondes marquées pendant une nuit à 65°C. Plusieurs lavages sont alors réalisés en augmentant les conditions de stringence. Les embryons sont ensuite incubés à 4°C dans une solution d'anticorps anti-digoxigénine couplés à la phosphatase alcaline. Une série de lavages est de nouveau réalisée puis les embryons sont transférés dans la solution de révélation.

Une fois la coloration apparue, les embryons sont lavés et fixés avant d'être observés sous une loupe binoculaire.

Document 5b : Résultats des hybridations avec des sondes « sens » *Lin 28 b*

Stade de développement	Observation sous loupe binoculaire Vue latérale gauche des embryons de Xénope
N22	 <p>Echelle : — 500 µm</p>
N31	 <p>Cerveau</p> <p>Moelle épinière</p> <p>Partie ventrale</p>

Document 5c : Résultats des hybridations avec des sondes « anti-sens » *Lin 28 b*

Stade de développement	Observation sous loupe binoculaire Vue latérale gauche des embryons de Xénope
N22	 <p>Echelle : — 500 µm</p>
N31	

2014 – U3: Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Durée : 2 h – coefficient 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français autorisé
- calculatrices autorisées
- tout autre matériel interdit

Conception et validation d'un biosenseur à éthanol

Le premier biosenseur, ou biocapteur, date de 1962 avec les travaux de Clark et Lyons qui ont mis au point un nouveau système de dosage du glucose en combinant des électrodes électrochimiques et une enzyme, la glucose oxydase. Depuis ce premier montage, les champs d'application de ces appareils n'ont cessé de se développer, les principaux débouchés restant avant tout le domaine médical et les biotechnologies de pointe.

La conception d'un biosenseur nécessite de réaliser plusieurs étapes consistant notamment à choisir l'enzyme adaptée, à la fixer sur une électrode, à évaluer son efficacité après immobilisation, et finalement à valider les résultats fournis par le biosenseur.

On se propose d'étudier le biosenseur Aox actuellement en cours de mise au point. Il devrait permettre à terme de doser l'éthanol en temps réel dans les liquides biologiques cervicaux *in vivo* après implantation chez l'animal.

L'électrode indicatrice utilisée est en platine, le montage de type ampérométrique est sensible au couple O_2/H_2O_2 , l'enzyme fixée est une alcool oxydase (Aox) EC 1.1.3.13 qui catalyse la transformation de l'éthanol en éthanal avec consommation d' O_2 et production de H_2O_2 .

1. L'alcool oxydase : composante biologique du biosenseur (5 points)

L'alcool oxydase (Aox) EC 1.1.1.13 de *Hansenula polymorpha* est une flavoprotéine constituée de **8 sous-unités**, chacune contenant une Flavine Adénine Dinucléotide (FAD).

Le **document 1** présente le site actif de l'alcool oxydase de *Hansenula polymorpha*.

1.1. Préciser si le FAD est un coenzyme « groupement prosthétique » ou un coenzyme « cosubstrat ». Justifier la réponse.

1.2. Préciser la nature des interactions matérialisées par des pointillés sur le **document 1**.

1.3. Identifier trois résidus d'acides aminés interagissant avec le FAD, préciser leur position dans la chaîne peptidique.

1.4. Ce site actif présente une « poche hydrophobe ». Justifier cette affirmation.

L'alcool oxydase utilisée comprend plusieurs domaines dont l'un est présenté en **document 2**.

1.5. Rappeler la signification des cylindres et des flèches pleines du **cadre A** du **document 2**.

1.6. Identifier et Indiquer le rôle des liaisons et interactions repérées par une flèche (type 1 et type 2) dans les **cadres B et C** du **document 2**.

1.7. Préciser si les feuilletts β de ce domaine sont de type parallèles, anti-parallèles ou mixtes. Justifier la réponse.

1.8. En déduire la notion de domaine.

2. Conception du biosenseur Aox (2,5 points)

Le **document 3** présente quelques extraits de la publication présentant les dernières avancées des travaux sur le « biosenseur Aox ».

L'enzyme doit dans un premier temps être immobilisée à la surface de l'électrode indicatrice de platine.

2.1. Présenter succinctement les différentes stratégies d'immobilisation d'une enzyme.

2.2. A partir du document 3, dégager une hypothèse quant au type d'immobilisation retenue. Justifier la réponse.

2.3. Proposer un avantage et un inconvénient de ce type d'immobilisation.

2.4. Le montage ampérométrique utilisé s'appuie sur une électrode polarographique dite de « Clark ». Synthétiser les données fournies dans le document 3 en réalisant un schéma présentant le fonctionnement général du biosenseur Aox et faisant apparaître les réactions mises en jeu.

3. Evaluation de l'efficacité du biosenseur Aox (5,5 points)

Les données regroupées les **documents 4 et 5** présentent les résultats des tests d'évaluation du biosenseur *in vitro*. L'enzyme alcool oxydase utilisée est considérée comme michaélienne.

Plusieurs protocoles d'immobilisation sont mis en œuvre, leur efficacité est testée par détermination des paramètres cinétiques de l'Aox fixée à l'électrode. Le **document 4** regroupe les données collectées.

3.1. Rappeler la relation de Michaélis Menten et définir les paramètres cinétiques de cette équation.

3.2. Préciser l'intérêt de déterminer chacun de ces paramètres dans le cadre de l'évaluation d'un biosenseur à enzyme.

3.3. A partir du **document 4**, identifier la concentration d'activité catalytique optimale de l'enzyme du point de vue des paramètres cinétiques. Argumenter la réponse.

Le **document 5** propose les résultats d'une étude métrologique de la capacité de dosage de l'éthanol par le biosenseur Aox *in vitro*.

Plusieurs paramètres métrologiques ont été déterminés :

- Le coefficient directeur et le coefficient de détermination de la régression représentant l'intensité du signal délivré par le biosenseur en fonction de la concentration en éthanol ;
- la limite ou seuil de détection ;
- limite de quantification ou seuil de saturation.

L'ensemble de ces paramètres a été déterminé selon la procédure suivante : cinq biosenseurs ont été préparés à l'aide de cinq solutions d'enzyme AoX de concentration d'activité catalytique différentes. Pour chaque biosenseur, l'intensité du signal a été mesurée pour différentes concentrations en éthanol.

3.4. Dans le cadre d'une étude métrologique du biosenseur, expliquer l'intérêt de déterminer chacun de ces paramètres.

3.5. Les résultats obtenus par cette étude sont-ils en accord avec le choix effectué en 3.3 ?

Le biosenseur Aox réalise un dosage de substrat grâce à une mesure d'activité enzymatique. Les deux méthodes généralement utilisées pour un dosage de substrat par voie enzymatique sont le dosage « en point final » et le dosage par « méthode cinétique ».

3.6. Proposer une hypothèse concernant la méthode utilisée pour le dosage de l'éthanol par le biosenseur Aox.

4. Extraction, purification et caractérisation d'une alcool oxydase alternative (5 points)

Une alcool oxydase alternative, extraite d'*Aspergillus ochraceus*, a été purifiée et caractérisée par une autre équipe. Elle pourrait devenir à terme une enzyme de substitution à l'alcool oxydase de *Hansenula polymorpha* dans le biosenseur.

La procédure d'extraction-purification de cette alcool-oxydase alternative repose sur 3 étapes

- extraction mécanique par billes de verre,
- purification par chromatographie d'échanges d'ions
- chromatographie sur colonne d'hydroxyapatite

Le **document 6** regroupe les résultats de l'évaluation des étapes de purification.

4.1. Calculer le rendement et le taux de purification ou enrichissement de chacune des étapes de purification.

4.2. La chromatographie sur hydroxyapatite est apparentée à une chromatographie d'affinité. Montrer que l'enrichissement obtenu à la dernière étape de la purification est conforme avec le principe de la chromatographie d'affinité.

L'alcool oxydase d'*Aspergillus ochraceus* a été finalement caractérisée par gel filtration et par SDS PAGE. Les résultats obtenus sont présentés dans le **document 7**.

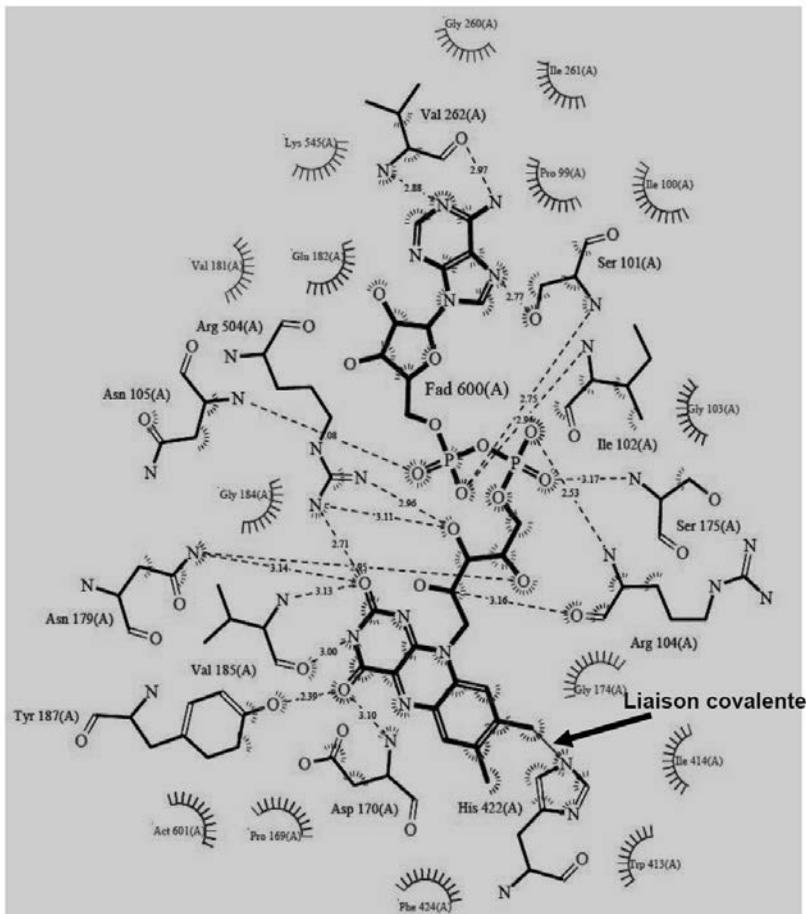
4.3. Déterminer la masse moléculaire de l'alcool oxydase d'*Aspergillus ochraceus* selon chacune des techniques employées.

4.4. Expliquer la différence de masses moléculaires déterminée selon la méthode de caractérisation. En déduire la structure générale de l'alcool oxydase d'*Aspergillus ochraceus*.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1**Site actif de l'alcool oxydase de *Hansenula polymorpha*.**

Fad = FAD =

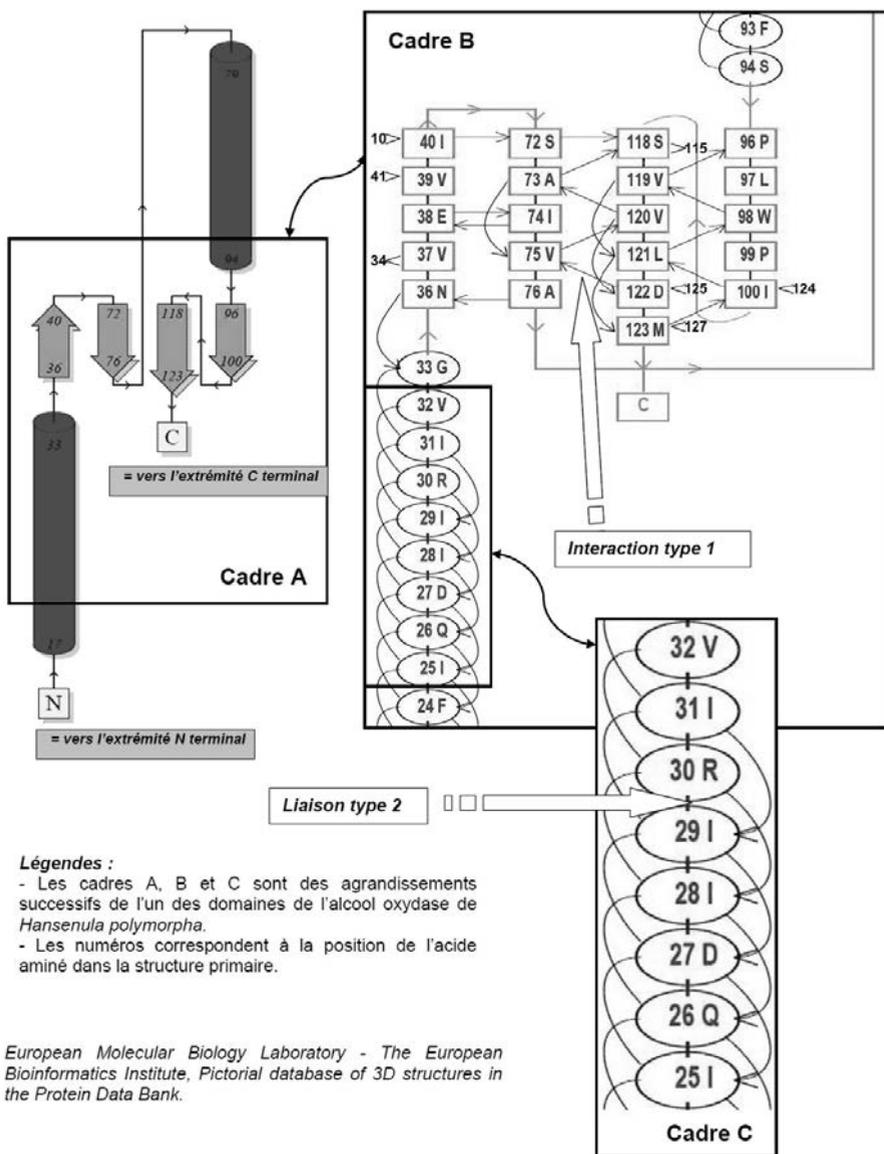
Les atomes d'Hydrogène n'ont pas été représentés sur ce document.

Tous les acides aminés représentés ont un rôle dans le site actif.

European Molecular Biology Laboratory - The European Bioinformatics Institute, Pictorial database of 3D structures in the Protein Data Bank.

Document 2

Détails de l'un des domaines de l'alcool oxydase étudiée

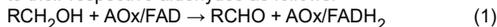


Document 3

Extraits de la publication présentant les dernières avancées des travaux sur le biosenseur Aox

"In a previous paper, we introduced a biosensor suitable for monitoring ethanol concentration in brain in real time. In that study, different designs were investigated, all manufactured using a fixed concentration for enzyme stock solution ($200 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ of alcohol oxidase), and we also investigated the role of polyethyleneimine or glycerol (or a combination of both) as enzyme enhancers and stabilizers ... Enzyme molecules are entrapped in a 1% polyurethane (PU) solution."

"AOx is capable of catalyzing the oxidation of primary, aliphatic short-chain alcohols (such as ethanol and methanol) to their respective aldehydes as follows:

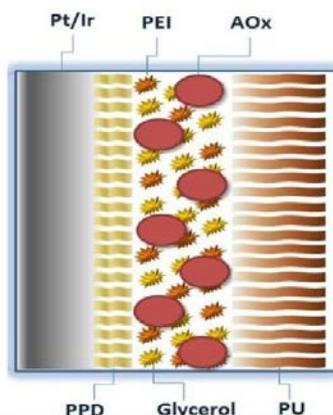


The hydrogen peroxide produced by Reaction (2) can be detected at a Platinum (Pt) surface by applying an anodic potential of +0.7 V vs. Ag/AgCl (Reaction (3))."

"Schematic representation of the main design of implantable alcohol biosensors developed and characterized in this study:

- Pt/Ir : 1 mm long, 125 μm diameter Pt/Ir cylinder,
- AOx: alcohol oxidase,
- PPD: poly-*ortho*-phenylenediamine,
- PU: polyurethane,
- PEI: polyethyleneimine,
- Different enzyme stock solutions were used, the concentration of which ranged from 100 to $800 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$."

Further *In vitro* Characterization of an Implantable Biosensor for Ethanol Monitoring in the Brain, Ottavio Secchi et al, Sensors 2013, 9522-9535, 23 July 2013



Document 4

Détermination des paramètres cinétiques de l'enzyme Aox immobilisée dans le biosenseur

AOx Loading Solution ($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Michaelis–Menten Kinetics	
	EtOH I_{MAX} (nA)	EtOH K_{M} (mM)
100	75 ± 6	34 ± 7
200	114 ± 7	44 ± 4
400	308 ± 10	56 ± 6
600	67 ± 13	52 ± 11
800	46 ± 10	59 ± 9

Légendes :

- EtOH = éthanol
- I_{MAX} exprimée en nano Ampères correspond à l'activité enzymatique maximale.
- L'unité « mM » correspond à des « $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ».

Document 5*Etude métrologique de la méthode de dosage de l'éthanol par le biosenseur*

Concentration d'activité catalytique de la solution d'enzyme Aox utilisée pour préparer le biosenseur (en U.mL ⁻¹)	Etude de l'évolution de l'intensité du signal délivré par le biosenseur en fonction de la concentration en éthanol		Seuil de détection $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Seuil de saturation ou limite de quantification $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
	Coefficient directeur de la droite de régression $\text{nA}\cdot\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Coefficient de détermination R^2		
100	1,09	0,996	6	20
200	1,77	0,997	11	30
400	3,94	0,996	17	56
600	0,92	0,995	32	106
800	0,67	0,991	53	164

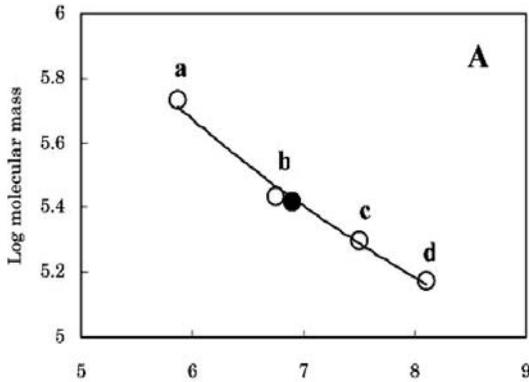
Source des documents 4 & 5 :

Further In vitro Characterization of an Implantable Biosensor for Ethanol Monitoring in the Brain, Ottavio Secchi et al, Sensors 2013, 9522-9535, 23 July 2013

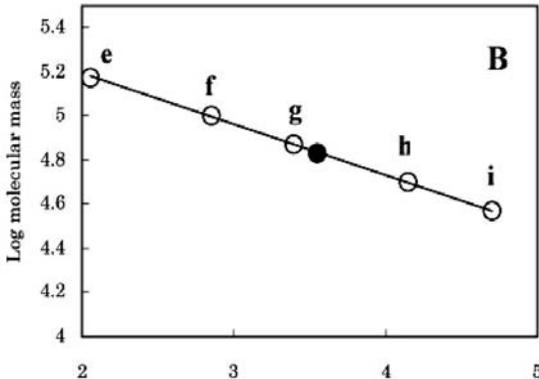
Document 6*Suivi des étapes de purification*

Step	Activity ^a (unit)	Protein (mg)
Cell-free extract	0.204	142
DEAE	0.090	4.0
Hydroxyapatite	0.046	0.057

^a Enzyme activity was assayed under standard assay conditions.

Document 7*Détermination de la masse moléculaire de l'Aox d'*A. ochraceus**

Volume d'élution (mL)



Distance de migration (cm)

Légendes :

(A) : Résultats obtenus par gel filtration sur colonne TSK gel G3000SWXL.

(B) : Résultats obtenus par la technique SDS PAGE.

Nature des étalons utilisés :

- a) uréase (hexamère, 545 kDa),
- b) uréase (trimer, 272 kDa),
- c) β -amylase (200 kDa),
- d) alcool déshydrogénase (150 kDa),
- e) protéine de 150 kDa,
- f) protéine de 100 kDa,
- g) protéine de 70 kDa,
- h) protéine de 50 kDa
- i) protéine de 37 kDa.

L'alcool oxydase d'*Aspergillus ochraceus* est matérialisée par un disque plein.*Documents 5, 6 & 7 : Characterization of alcohol oxidase from Aspergillus ochraceus. Kimiyasu Isobe et al. J. Gen. Appl. Microbiol.*

2014 – U41 : Microbiologie et génie fermentaire

Durée : 2 h – coefficient 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice n'est pas autorisée

***Synechocystis* sp. PCC 6803, cyanobactérie modèle pour les biotechnologies**

Synechocystis sp PCC6803, ci-après dénommée *Synechocystis*, est une cyanobactérie photosynthétique, incapable d'assimiler l'azote atmosphérique.

Actuellement très étudiée, cette cyanobactérie peut être utilisée en tant que :

- dépolluant des usines productrices de dioxyde de carbone afin de limiter la production de ce gaz à effet de serre ;
- source de biodiesel ou de bioéthanol ;
- source de plastique biodégradable, complément alimentaire.

Elle peut parfois être valorisée comme source d'hydrogène.

1. Biologie de *Synechocystis*. (7 points)

1.1. Morphologie

La morphologie de *Synechocystis* est présentée dans les **documents 1A et 1B**.

1.1.1. Déterminer le type de paroi de *Synechocystis* : monoderme (correspondant à une paroi de type Gram +) ou diderme (correspondant à une paroi de type Gram-). Justifier la réponse.

1.1.2. Nommer les principaux éléments structuraux et moléculaires permettant la photosynthèse et rappeler leur fonction cellulaire.

1.2. Métabolisme énergétique

Selon les conditions environnementales, cette bactérie peut avoir un métabolisme soit autotrophe, soit hétérotrophe, soit un métabolisme mixte appelé mixotrophe.

1.2.1. Proposer une définition de l'autotrophie.

Le **document 2** présente la photosynthèse et la chaîne respiratoire qui sont co-localisées et en interaction chez les cyanobactéries.

- 1.2.2. Lister dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne respiratoire de transport d'électrons (complexes et protéines). Préciser le donneur initial et l'accepteur final d'électrons.
- 1.2.3. Lister dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne photosynthétique (complexes et protéines). Préciser le donneur initial et l'accepteur final d'électrons.
- 1.2.4. En déduire les trois éléments communs de ces deux chaînes de transport d'électrons.

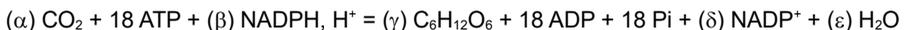
Ces chaînes de transport d'électrons permettent la création d'un gradient électro-chimique de protons.

- 1.2.5. Expliquer la formation de ce gradient.
- 1.2.6. Argumenter l'intérêt métabolique de ce gradient.

La photolyse de l'eau conduit à l'apparition de dioxygène. Les cyanobactéries possèdent des mécanismes de protection contre les espèces réactives issues de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species* : ROS).

- 1.2.7. Rappeler deux exemples d'espèces réactives issues de l'oxygène.
- 1.2.8. Proposer deux exemples d'enzymes impliquées dans la protection contre les ROS.

La réaction globale de fixation du dioxyde de carbone dans le cycle de Calvin-Benson est la suivante :



- 1.2.9. Déterminer les coefficients stœchiométriques α , β , γ , δ , et ε .
- 1.2.10. En déduire le besoin en ATP et en pouvoir réducteur, pour la consommation d'une molécule de dioxyde de carbone.

2. Croissance de *Synechocystis*. (11 points)

Les cyanobactéries photosynthétiques jouent un rôle important dans les cycles de la matière. Elles peuvent survivre dans des conditions extrêmes, et bien qu'autotrophes, leur croissance est très souvent limitée dans l'environnement.

2.1. Les efflorescences algales nuisibles (Harmful Algal Blooms)

Dans certaines conditions, décrites dans le **document 3**, *Synechocystis* produit des structures particulières, appelées efflorescences algales.

2.1.1. Expliquer l'origine des efflorescences algales.

Les efflorescences algales ont trois effets néfastes sur l'environnement aquatique.

2.1.2. Dégager ces trois effets.**2.2.** La culture de *Synechocystis* pour une production de biomasse.

Les cyanobactéries peuvent être cultivées soit en champs ouverts « open ponds », soit en photo-bioréacteurs (**document 4**).

2.2.1. Citer tous les paramètres de croissance qui limitent l'utilisation des « open ponds ».**2.2.2.** Les « open ponds » sont tout de même rentables. Argumenter cette affirmation.

Une culture continue régulée selon le principe du chémostat en photo-bioréacteur est utilisée afin d'étudier la croissance de *Synechocystis* en présence de différentes concentrations en azote.

Le milieu de culture utilisé pour la croissance de *Synechocystis* est le milieu « Oscillatoria 2 » dont la composition est donnée dans le **document 5**.

2.2.3. Préciser à quel type de milieu appartient l'« Oscillatoria 2 ».**2.2.4.** Identifier les types trophiques et les exigences éventuelles de *Synechocystis*.

Le **document 6** présente le schéma d'un photo-bioréacteur régulé selon le principe d'un chémostat. Lors du fonctionnement d'un chémostat, la croissance atteint un état d'équilibre dynamique caractérisé par l'absence de la variation de la biomasse.

$$\frac{d[\text{biomasse}]}{dt} = 0 \quad \text{et} \quad \mu_x = D.$$

- μ_x désigne la vitesse spécifique de croissance (en h^{-1}),
- D désigne le taux de dilution (en h^{-1}),
- $[\text{biomasse}]$ désigne la concentration de la biomasse (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),
- t désigne le temps (en heure).

2.2.5. Expliquer ce qu'exprime la vitesse spécifique de croissance (μ_x).**2.2.6.** Écrire la relation entre le débit d'alimentation (F) du bioréacteur en $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, le volume du bioréacteur (V) et le taux de dilution (D).

2.3. Effet de l'azote sur la culture de *Synechocystis*.

2.3.1. Présenter le calcul de la concentration molaire en azote dans le milieu « *Oscillatoria 2* ».

Données : $M_{Na} = 23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_N = 14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_O = 16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 $M_C = 12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_H = 1 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $M_S = 32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Dans l'expérience proposée par le **document 7**, le chémostat est à l'équilibre dynamique depuis plusieurs jours. L'apport en azote est rendu limitant à une concentration finale de $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans le bioréacteur.

2.3.2. Déterminer la valeur de μ_x à l'état stationnaire. Calculer le temps moyen de doublement de la biomasse qui correspond à cette valeur.

2.3.3. Calculer le réglage du débit de la pompe d'alimentation afin d'assurer un fonctionnement en mode chémostat d'un photobioréacteur de 2 litres.

À partir du temps zéro de l'expérience, on maintient l'équilibre dynamique pendant trois jours puis, au temps « 3 jours », la concentration de la source d'azote est modifiée pour obtenir une concentration finale en azote de $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans le bioréacteur. Cette concentration est maintenue pendant sept jours.

On observe alors une augmentation de la biomasse jusqu'au huitième jour, puis elle reste constante jusqu'au douzième jour (**document 7**).

2.3.4. Comparer les deux courbes du **document 7**. En déduire que la concentration en azote est limitante à $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Des analyses associées ont permis de montrer que ce n'est pas l'azote qui est limitant lors de l'alimentation du chémostat à 6 mM, mais l'intensité de lumière reçue par chaque cellule de *Synechocystis*.

2.3.5. Expliquer pourquoi l'éclairement par cellule est devenu limitant avec une alimentation en azote à $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ par rapport à une alimentation en azote à $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

2.3.6. Proposer une expérience permettant d'étayer cette affirmation.

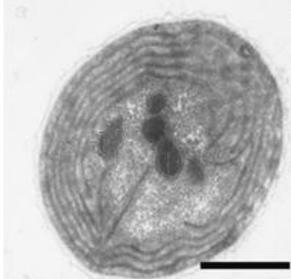
Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1**Morphologie de *Synechocystis* sp. PCC 6803**

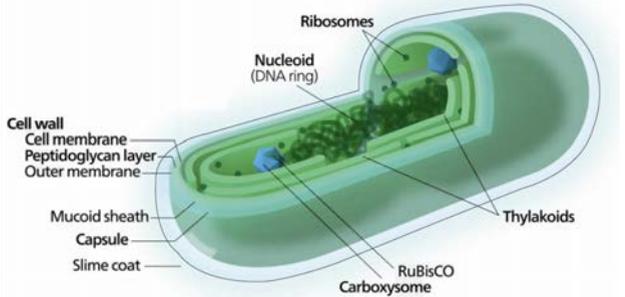
A : microscopie électronique à transmission



0,5 µm

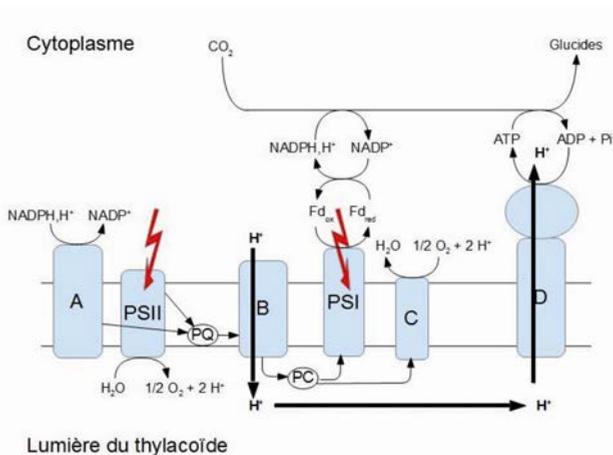
Source du document :
<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00709-010-0126-8/fulltext.html>

B : représentation schématique d'une cyanobactérie.



RuBisCO : ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase – oxygenase

Source du document : en.wikipedia

Document 2**Représentation schématique des interrelations entre la chaîne membranaire de transport d'électrons de la chaîne respiratoire et de la photosynthèse**

Légende : **A)** NADPH⁺ déshydrogénase ; **B)** complexe du cytochrome b6f ; **C)** cytochrome oxydase ; **D)** ATP synthase ; **PSI)** photosystème I ; **PSII)** photosystème II ; **PQ)** plastoquinone ; **PC)** plastocyanine ; **Fd_{ox}** et **Fd_{red}** : ferrédoxine sous la forme oxydée et réduite.

Les flèches pleines indiquent les réactions de transfert d'électrons, les flèches en gras indiquent les transferts de protons et les éclairs indiquent l'énergie lumineuse.

Document 3Harmful Algal Blooms (HABs)

Algal blooms occur in natural waters used for drinking and/or recreation when certain types of microscopic algae grow quickly in water, often in response to changes in levels of chemicals such as nitrogen and phosphorus from fertilizer, in the water.

Algal blooms can deplete the oxygen and block the sunlight that other organisms need to live, and some can produce toxins that are harmful to the health of the environment, plants, animals, and people. Cyanobacteria are examples of algae that can bloom and produce such toxins.

Source : extrait du "Center for Disease Control and Prevention" :

<http://www.cdc.gov/nceh/hsb/hab/default.htm>

Document 4Open ponds

The use of open ponds as a method for the cultivation of microalgae is quite common.

The location in which the pond is situated is a critical factor because the pond becomes a function of the local climate. Open ponds are limited by key growth parameters including light intensity, temperature, pH and dissolved oxygen concentration. Contamination by predators is another issue involved with open ponds. Contamination can limit the cultivation system to algal strains which can only grow under severe conditions.

Nonetheless, the cost involved with cultivation ponds are significantly less than that of closed systems. The construction, operating and maintenance costs of cultivation ponds are lower than photobioreactor options, they are less technical in design and are more scalable.

Source : extraits de "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products". R. Harun et al. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (2010) 1037–1047

Document 5Milieu « Oscillatoria 2 »

MgSO₄, 7 H₂O 50,0 mg·L⁻¹

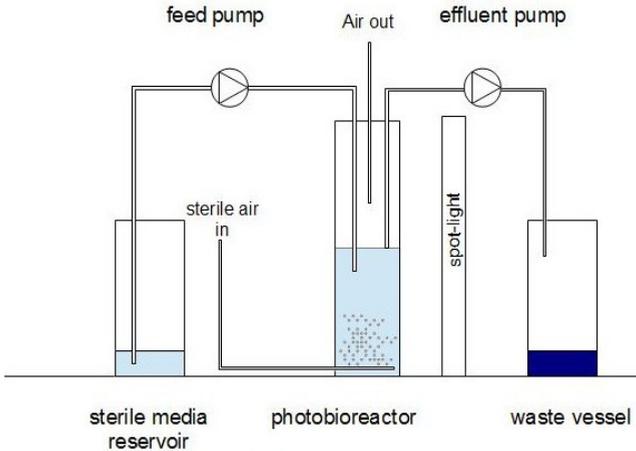
NaNO₃ 500,0 mg·L⁻¹

K₂HPO₄ 25,0 mg·L⁻¹

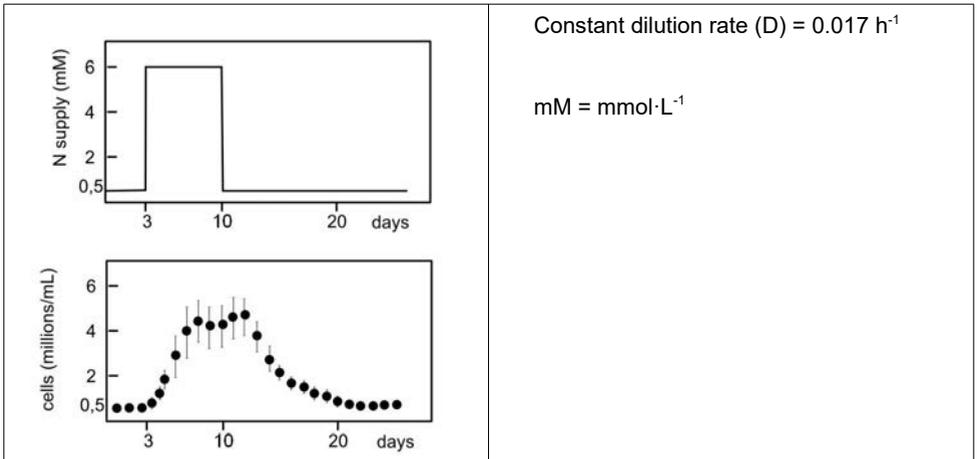
CaCl₂, 2 H₂O 13,0 mg·L⁻¹

NaHCO₃ 20,0 mg·L⁻¹

FeCl₂, 4 H₂O 2,2 mg·L⁻¹

Document 6*Chemostat photobioreactor*

Level maintained by setting effluent pump to run faster than the feed pump.

Document 7*Chemostat culture of *Synechocystis* under nitrogen regulation.*

2014 – U42 : Biologie cellulaire

Durée : 2 h – coefficient 1

La mitochondrie : un organelle singulier

Les mitochondries sont des organites présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception de certains parasites unicellulaires (*Trichomonas*). Visualisées en microscopie photonique dès la fin du XIX^{ème} siècle, leur rôle premier a été mis en évidence au cours des années 40 : les mitochondries assurent la respiration cellulaire et fournissent l'énergie permettant la production de 95 % de l'ATP des cellules.

Depuis, il a été prouvé que les mitochondries jouaient un rôle dans d'autres processus cellulaires dont l'apoptose.

De par leur structure, leur origine endosymbiotique et leurs fonctions variées, les mitochondries sont sans aucun doute les organites les plus singuliers de la cellule.

1. Structure et renouvellement des mitochondries (6 points)

1.1. Proposer un schéma structural annoté d'une mitochondrie en localisant la chaîne respiratoire.

L'étude du transport des protons à partir de l'espace intermembranaire a permis d'obtenir le résultat présenté dans le **document 1**.

1.2. A partir de l'analyse de ce résultat, déduire le mode de transport des protons au niveau de la membrane interne mitochondriale.

1.3. Rappeler le rôle du transport des protons dans la respiration cellulaire et préciser le complexe membranaire impliqué.

La mitochondrie, comme toute structure cellulaire, est soumise à renouvellement. Les cellules eucaryotes utilisent deux moyens principaux pour éliminer les organites et molécules devenus inutiles ou nocifs : l'autophagie et le système ubiquitine-protéasome.

1.4. Expliquer le fonctionnement du système ubiquitine-protéasome.

1.5. Indiquer si les mitochondries peuvent être éliminées par le système ubiquitine-protéasome. Justifier la réponse.

Le **document 2** schématise l'autophagie d'une mitochondrie.

1.6. Annoter le document 2 en reportant les lettres A, B, C, D, et E sur la copie.

1.7. Expliquer chacune des trois étapes.

2. Obtention et purification de la fraction mitochondriale (9 points)

Les mitochondries sont le siège de la respiration cellulaire. Afin d'étudier ce métabolisme, on souhaite purifier des mitochondries à partir d'une lignée de cellules épithéliales pulmonaires MRC-5. La fiche technique est présentée dans le **document 3**.

2.1. Étude de la lignée MRC5.

- 2.1.1. Répertorier les mesures de prévention liées aux risques de l'utilisation de cette lignée ; justifier.
- 2.1.2. Préciser, à l'aide du **document 3**, si la lignée MRC5 est continue. Justifier la réponse.
- 2.1.3. Indiquer les principaux rôles du sérum de veau fœtal.
- 2.1.4. Justifier le choix d'une stérilisation par filtration pour le sérum de veau fœtal.

2.2. Entretien de la lignée MRC-5.

- 2.2.1. Décrire et justifier la morphologie des cellules observées sur la photographie du **document 3**.
- 2.2.2. À l'aide du **document 3**, expliquer le rôle de l'étape 2 du protocole.
- 2.2.3. Expliquer les rôles de la trypsine et de l'EDTA utilisés dans l'étape 3 du **document 3**. Préciser l'intérêt de incubation à 37°C.
- 2.2.4. Indiquer pourquoi l'étape 3 (**document 3**) ne peut excéder 15 minutes.

2.3. Conservation de la lignée du MRC-5 par congélation.

- 2.3.1. Citer et expliquer l'origine des altérations subies par les cellules lors de leur congélation.
- 2.3.2. Indiquer l'intérêt du DMSO dans le processus de congélation.

2.4. Obtention d'une suspension de mitochondries.

Le principe de l'obtention de fractions cellulaires est détaillé dans le **document 4**.

- 2.4.1. Nommer la technique permettant l'obtention des fractions cellulaires.
- 2.4.2. Dégager l'utilité de l'étape 1 de ce protocole.
- 2.4.3. Citer une autre technique possible pour réaliser cette étape.
- 2.4.4. A l'aide du **document 5**, identifier la fraction dans laquelle se trouvent les mitochondries.
- 2.4.5. Indiquer la composition exacte de la fraction identifiée précédemment. Justifier la réponse.

Afin de purifier la suspension de mitochondries, la fraction d'intérêt est centrifugée sur un gradient de densité continu de saccharose.

- 2.4.6. Expliquer le principe de cette technique.
- 2.4.7. À l'aide du **document 6**, représenter le tube après centrifugation en localisant les différents organites séparés et le gradient de concentration.

3. Mitochondries et apoptose (3 points)

L'étude des mitochondries a permis de préciser les mécanismes cellulaires de l'apoptose.

3.1. Définir l'apoptose.

3.2. Citer deux exemples de facteurs pouvant déclencher l'apoptose cellulaire.

3.3. À partir du schéma présenté dans le **document 7**, décrire les étapes de la voie intrinsèque de l'apoptose et indiquer les noms des molécules A, B et C.

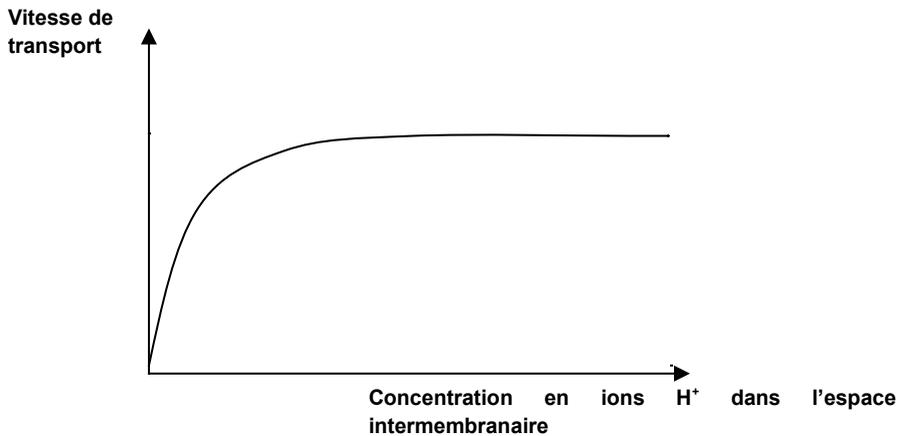
Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

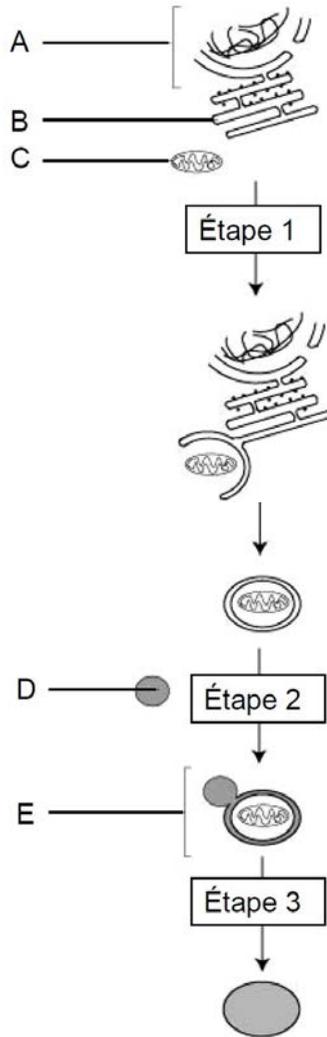
Document 1

Étude du transport des protons au niveau de la mitochondrie



Document 2

Mécanisme de l'autophagie d'une mitochondrie.

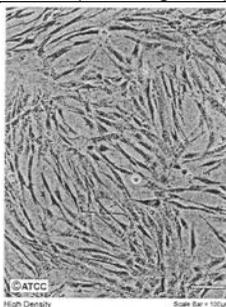


Document 3*Fiche technique de la lignée cellulaire MRC-5*

Organism:	<i>Homo sapiens</i> (human) Male – Caucasian 14 weeks gestation
Source:	Organ: lung Cell type: fibroblast Disease: normal

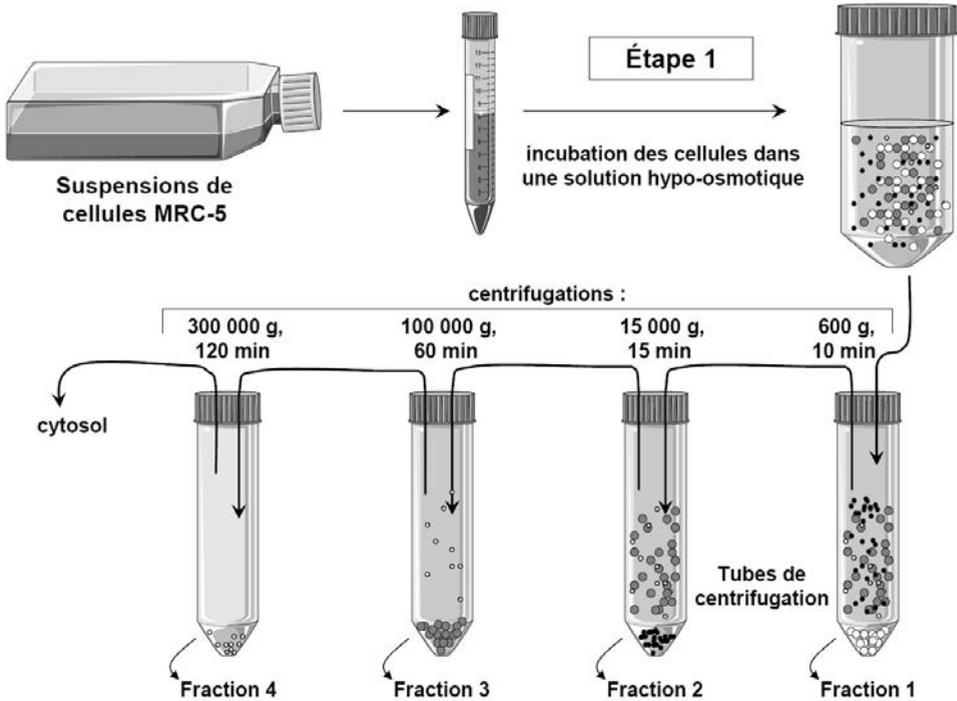
Comments:	The MRC-5 cell line was derived from normal lung tissue of 14-week-old-male fetus by J.P. Jacobs in September of 1966. The cell are capable of 42 to 46 population doublings before the onset of senescence. ATCC complete growth medium: the base medium for this cell line is ATCC-formulated Eagle's Minimum Essential Medium, catalog No. 30-2003. To make the complete growth medium, add the following components to the base medium: fetal bovine serum to a final concentration of 10%. Temperature: 37.0°C
------------------	--

Propagation:	Protocol: 1- Remove and discard culture medium. 2- Briefly rinse the cell layer with 0.25% (w/v) Trypsin-0.53 mM EDTA solution to remove all traces of serum which contains trypsin inhibitor. 3- Add 2.0 to 3.0 mL of Trypsin-EDTA solution to flask and observe cells under an inverted microscope until cell layer is dispersed (usually within 5 to 15 minutes). Note: To avoid clumping do not agitate the cells by hitting or shaking the flask while waiting for the cells to detach. Cells that are difficult to detach may be placed at 37°C to facilitate dispersal. 4- Add 6.0 to 8.0 mL of complete growth medium and aspirate cells by gently pipetting. 5- Add appropriate aliquots of the cell suspension to new culture vessels. 6- Incubate cultures at 37°C.
Subculturing:	Subcultivation ratio: A subcultivation ratio of 1:2 to 1:5 is recommended.
Preservation:	Medium renewal: 1 to 2 times per week Freeze medium: Complete growth medium 95%; DMSO 5%. Storage temperature: liquid nitrogen vapor temperature.



Document 4

Protocole de séparation des constituants cellulaires à partir d'une suspension de cellules MRC-5

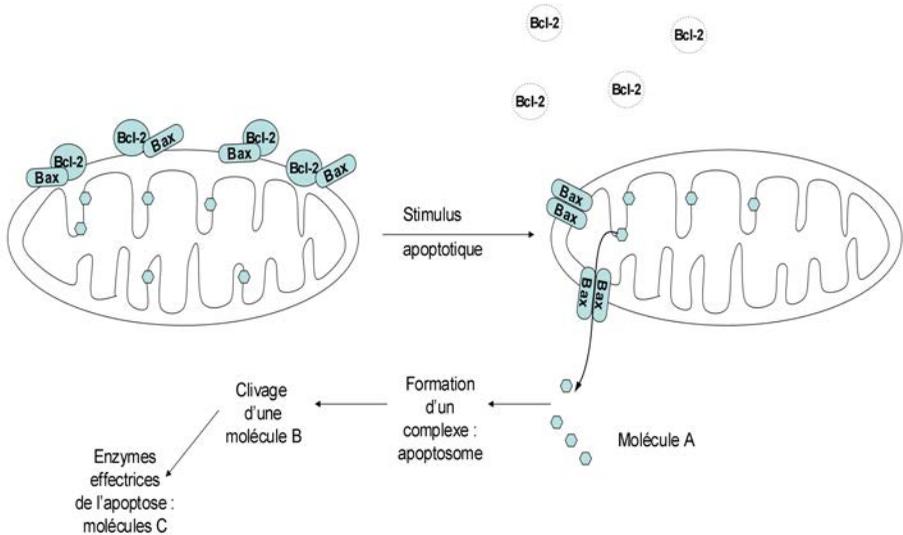
**Document 5**

Vitesse et temps permettant la séparation des constituants cellulaires

Organite	Accélération (g)	Temps de centrifugation (min)
Noyau cellulaire	400 à 600	10
Mitochondrie	5 000 à 15 000	10
Lysosome	8 000 à 15 000	10
Peroxisome	8 000 à 15 000	10
Membrane plasmique	80 000 à 100 000	45
Fragment du réticulum	80 000 à 100 000	45
Petites vésicules	90 000 à 100 000	45
Fraction microsomale	95 000 à 100 000	45
Ribosomes	250 000 à 300 000	90
Macromolécules	250 000 à 300 000	90

Document 6*Densité des différents organites cellulaires*

Organite	Densité en g/cm ³
Mitochondrie	1,18
Lysosome	1,12
Peroxisome	1,20
Membrane plasmique	1,22
Fragment du réticulum endoplasmique rugueux	1,30
Vésicule de Golgi	1,24
Ribosomes	1,41

Document 7*Schéma des principales étapes de la voie intrinsèque de l'apoptose*

2014 – ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ

Ces quelques corrigés sont proposés pour vous aider dans la résolution des épreuves proposées au BTS.

Ils ne seront d'aucune utilité si vous vous contentez de lire les solutions sans avoir fait l'effort personnel de la réflexion et de la recherche des réponses aux questions proposées.

Ces corrigés sont parfois succincts, en particulier sur des parties de cours, parfois certaines remarques et compléments de cours sont ajoutés pour faciliter la compréhension et peuvent aller au delà de ce qui est exigible à l'examen.

Ce ne sont pas des modèles imposés, d'autres solutions, d'autres démarches sont possibles. *Des imprécisions, des erreurs ont pu se glisser dans les textes, veuillez nous en excuser.*

Pour certaines questions des liens Internet peuvent être proposés en complément.

U11 : Mathématiques

EXERCICE 1 (10 points)

Une société agro alimentaire produit des plats cuisinés. Elle utilise pour cela des pièces de viande de 2 kg

PARTIE A : Détermination de la constante k

1. On pose $z_i = \ln(5 - \theta_i)$ (on doit avoir $\theta < 5$).

t_i	0	5	10	15	20	25
z_i	3,26	2,31	1,36	0,41	-0,51	-1,61

2. La calculatrice donne : $z = -0,19t + 3,28$ au centième près

3.

$$\ln(5 - \theta(t)) = z(t)$$

$$5 - \theta(t) = e^{z(t)}$$

$$\theta(t) = -e^{-0,19t+3,28} + 5$$

$$\theta(t) = -e^{3,28} \times e^{-0,19t} + 5$$

$$e^{3,28} \approx 26,58 \text{ d'où } \theta(t) = -26,58 \times e^{-0,19t} + 5 \text{ (t compris entre 0 et 25).}$$

4.

$$\theta'(t) = -26,58 \times (-0,19) \times e^{-0,19t} \text{ ce qui donne } \theta'(t) = 5,0502 \times e^{-0,19t}$$

$$\theta'(t) = 5,0502 \times e^{-0,19t} \text{ et } \theta(t) - 5 = -26,58 \times e^{-0,19t}$$

De l'équation (E) : $\theta'(t) = k(\theta(t) - T)$, on en déduit avec $T=5$,

$$5,0502 \times e^{-0,19t} = k(-26,58) \times e^{-0,19t} \text{ et par suite } k = \frac{5,0502}{-26,58} = -0,19$$

PARTIE B : Durée de décongélation**1. Résolution d'une équation différentielle : $y' + 0,19y = 0,38$**

a) Les solutions de (E_0) , $y' + 0,19y = 0$ sont de la forme :

$$y_0(t) = Ce^{-0,19t} \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad C \text{ constante réelle}$$

b) $\forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = c, \quad \text{donc} \quad h'(t) = 0.$

$$h \text{ est solution de (E)} \Leftrightarrow h'(t) + 0,19h(t) = 0,38$$

$$\Leftrightarrow 0,19c = 0,38$$

$$\Leftrightarrow c = \frac{0,38}{0,19} = 2$$

D'où, $\forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = 2.$

c) Les solutions de (E) sont de la forme :

$$y(t) = y_0(t) + h(t) = Ce^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad , C \text{ constante réelle}$$

2. Détermination de la fonction θ

a) θ est solution de l'équation (E), donc $\theta(t) = Ce^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[.$

$$\theta(0) = -21 \Leftrightarrow C + 2 = -21 \Leftrightarrow C = -23$$

d'où $\theta(t) = -23e^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[.$

b)

$$\left. \begin{array}{l} \lim_{t \rightarrow +\infty} -0,19t = -\infty \\ \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \end{array} \right\} \text{ donc } \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,19t} = 0 \quad \text{d'où } \lim_{t \rightarrow +\infty} \theta(t) = 2$$

La température de la viande ne dépassera pas 2°C au fil des heures.

3. Durée de décongélation

a) Soit à résoudre l'inéquation $\theta(t) \geq 0$

$$-23e^{-0,19t} + 2 \geq 0 \Leftrightarrow e^{-0,19t} \leq \frac{2}{23} \Leftrightarrow -0,19t \leq \ln\left(\frac{2}{23}\right) \Leftrightarrow t \geq \frac{-1}{0,19} \ln\left(\frac{2}{23}\right)$$

$$\frac{-1}{0,19} \ln\left(\frac{2}{23}\right) \approx 12,85$$

d'où un temps nécessaire à la décongélation d'au moins 13 h.

b) La durée étant supérieure à 12 heures, la viande ainsi décongelée donnera l'illusion du produit frais.

PARTIE C : Prise en compte de la réglementation sanitaire

1.

a) $v(t) = 3e^{0,06t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$, d'où les primitives G de la fonction v sont :

$$G(t) = \frac{3}{0,06} e^{0,06t} + k = 50e^{0,06t} + k \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad , k \text{ constante réelle}$$

b) La primitive G_0 de la fonction v vérifie $G_0(0) = 50$, ce qui donne :

$$50 + k = 50 \Leftrightarrow k = 0$$

$$G_0(t) = 50e^{0,06t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$$

2.

Entre 18 h le soir et 8 h le lendemain matin, il s'est écoulé 14 heures.

$G_0(14) \approx 115,82 > 100$, donc la réglementation sanitaire de ces pays ne sera pas respectée.

EXERCICE 2 (10 points)

PARTIE A : le défaut mécanique

1. On répète 50 fois de manière indépendante (constitution du lot assimilée à un tirage avec remise) une épreuve de Bernoulli dont le succès est l'événement « la pompe présente un défaut mécanique » et sa probabilité est $p = 0,01$.

La variable aléatoire X égale au nombre de succès dans un lot de 50 pompes, suit donc la loi binomiale de paramètres $n = 50$ et $p = 0,01$.

2.

a) $P(X = 1)$ est la probabilité d'avoir une pompe présentant un défaut mécanique.

$$P(X = 1) = \binom{50}{1} \times 0,01^1 \times 0,99^{49} \approx 0,306 \text{ au millième près.}$$

La probabilité qu'une caisse contienne une pompe présentant un défaut mécanique est 0,306.

b) On demande $P(X \geq 2)$

$$P(X \geq 2) = 1 - [P(X = 0) + P(X = 1)]$$

$$P(X \geq 2) = 1 - [0,605 + 0,306] = 1 - 0,911 = 0,089 \text{ à } 10^{-3} \text{ près}$$

La probabilité qu'une caisse contienne au moins deux pompes présentant un défaut mécanique est 0,089.

3) a) $\lambda = n \times p = 50 \times 0,01 = 0,5$.

b) Y suit la loi de Poisson de paramètre $\lambda = 0,5$.

$$P(Y \geq 4) = 1 - P(Y < 4) = 1 - [P(Y = 0) + P(Y = 1) + P(Y = 2) + P(Y = 3)]$$

$$P(Y \geq 4) = 1 - [0,998] \text{ d'après le tableau de la loi de Poisson de paramètre } 0,5$$

$$P(Y \geq 4) = 0,002 \text{ au millième près.}$$

La probabilité qu'une caisse contienne au moins quatre pompes présentant un défaut mécanique est 0,002

PARTIE B : le défaut de débit

On suppose que Z suit une loi normale de moyenne $m = 6$ et d'écart type $s = 0,15$.

Calculons la probabilité que la pompe soit conforme

Soit $T = \frac{Z-6}{0,15}$, alors T suit la loi normale $N(0; 1)$.

$$P(5,75 \leq Z \leq 6,25) = P\left(-\frac{5}{3} \leq T \leq \frac{5}{3}\right) = 2 \Pi\left(\frac{5}{3}\right) - 1$$

On lit sur la table de la loi normale centrée réduite, $\Pi\left(\frac{5}{3}\right) \approx 0,9525$, ce qui nous donne

$$P(5,75 \leq Z \leq 6,25) = 0,905 \text{ au millième près,}$$

ou directement à la calculatrice et on obtient 0,904 au millième près.

On en déduit que la probabilité qu'une pompe présente un défaut de débit est de :

$1 - 0,905$ c'est-à-dire **0,095 au millième près** ou

$1 - 0,904$ c'est-à-dire **0,096 au millième près**.

PARTIE C : estimation du débit moyen des pompes d'une livraison

1. On obtient 5,932 pour la moyenne et 0,162 pour l'écart type au millième près.

2.a) On admet que \bar{X} suit la loi normale de moyenne inconnue μ et d'écart type

$$\sigma = \frac{0,16}{\sqrt{50}}$$

On sait que $P(\mu - 1,96 \times \sigma \leq \bar{X} \leq \mu + 1,96 \times \sigma) = 0,95$ d'où

$$a = 1,96 \times \frac{0,16}{\sqrt{50}} = 0,045 \text{ au millième près } \mathbf{par\ excès}.$$

b) La moyenne de l'échantillon 5,932 est un bon estimateur de la moyenne inconnue μ , ce qui nous donne comme intervalle de confiance avec un coefficient de confiance supérieur ou égal à 0,95 :

$$[5,932 - 0,045 ; 5,932 + 0,045] = [\mathbf{5,887} ; \mathbf{5,977}]$$

vérification à la calculatrice $P(\bar{X} \in [5,887; 5,977]) \approx 0,973$

U12 : Sciences physiques et chimiques

1. Chimie organique (16 points)

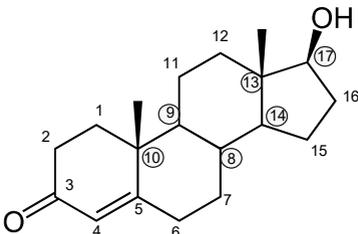
1.1.

1.1.1. Un carbone asymétrique est un carbone portant quatre substituants différents.

1.1.2. La molécule de testostérone comporte six atomes de carbone asymétriques :

1.1.3. De ce fait, il peut exister $2^6 = 64$ stéréoisomères de cette molécule.

1.1.4. La testostérone et l'épitestostérone ne sont pas des énantiomères : deux molécules sont des énantiomères seulement si l'ensemble de leurs carbone asymétriques sont dans des configurations inverses, et ce n'est pas le cas de ces deux stéréoisomères.



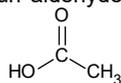
1.2.

1.2.1. Formule de l'éthanal : $\text{H}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$ il s'agit d'un aldéhyde.

1.2.2.

1.2.2.1 La réaction donnant un acide carboxylique à partir d'un aldéhyde est une oxydation.

1.2.2.2 L'acide carboxylique formé et l'acide éthanoïque : (A)



1.2.3.

1.2.3.1 Formule du chlorure d'éthanoyle : (B)



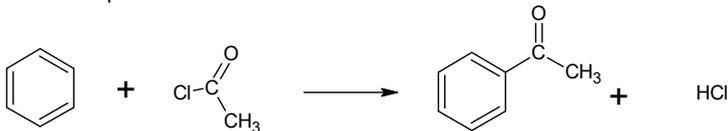
1.2.3.2 Les agents chlorurants peuvent être par exemple SOCl_2 , PCl_5 , PCl_3 ...

1.2.4.

1.2.4.1 La réaction d'acylation est une substitution électrophile.

1.2.4.2 On peut utiliser le chlorure d'aluminium AlCl_3 .

1.2.4.3 Équation de la réaction :

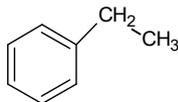


1.2.4.4 formule de l'ion qui intervient dans le mécanisme réactionnel :



1.2.4.5 Il s'agit d'une fonction cétone.

1.2.5. Formule de l'éthylbenzène :



2. Chimie générale (16 points)

Les deux parties sont indépendantes

2.1. L'ion cyanure

2.1.1. Schéma de Lewis de l'acide cyanhydrique : $\text{H}-\text{C}\equiv\text{N}:$

2.1.2. Pour calculer le rapport de concentrations on a :

$$K_A = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})]_{\text{éq}} \cdot [\text{CN}^-(\text{aq})]_{\text{éq}}}{[\text{HCN}(\text{aq})]_{\text{éq}}} \quad \text{donc}$$

$$\frac{[\text{HCN}(\text{aq})]_{\text{éq}}}{[\text{CN}^-(\text{aq})]_{\text{éq}}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+(\text{aq})]_{\text{éq}}}{K_A} \quad \text{soit} \quad \frac{[\text{HCN}(\text{aq})]_{\text{éq}}}{[\text{CN}^-(\text{aq})]_{\text{éq}}} = \frac{10^{-10,5}}{10^{-9,3}} = 6,3 \times 10^{-2}$$

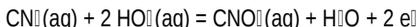
La concentration d'acide cyanhydrique est donc négligeable par rapport à la concentration en ions cyanure, le dégagement de cyanure d'hydrogène à cette valeur de pH est donc également négligeable.

2.1.3.

2.1.3.1 Demi-équation électronique de cette oxydation en milieu acide :



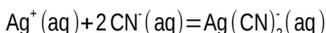
2.1.3.2 demi-équation électronique en milieu basique :



2.1.3.3 2.1.3. La destruction des ions cyanure fait intervenir leur oxydation en ions cyanate CNO^- .

2.2.

2.2.1. Équation de la réaction de formation du complexe :

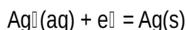


2.2.2. Constante de formation du complexe :

$$K_F = \frac{[\text{AgCN}_2^-(\text{aq})]_{\text{éq}}}{[\text{Ag}^+(\text{aq})] \cdot [\text{CN}^-(\text{aq})]_{\text{éq}}^2}$$

2.2.3.

2.2.3.1 demi-équation électronique associée au couple $\text{Ag}^+(\text{aq}) / \text{Ag}(\text{s})$



2.2.3.2 pour calculer la concentration en ions argent (I) on utilise la loi de Nernst :

$$E(\text{Ag}(\text{s})) = E^0(\text{Ag}^+(\text{aq}) / \text{Ag}(\text{s})) + 0,06 \cdot \log[\text{Ag}^+(\text{aq})] \quad \text{donc} \quad [\text{Ag}^+(\text{aq})] = 10^{\frac{E - E^0}{0,06}}$$

$$[\text{Ag}^+(\text{aq})] = 1,0 \times 10^{-18} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

2.2.3.3 Tableau d'avancement :

Équation de la réaction		$Ag^+(aq) + 2CN^-(aq) = Ag(CN)_2^-(aq)$		
	avancement	Quantité de matière dans un litre		
État initial	0	$1,0 \times 10^{-2}$	$3,0 \times 10^{-2}$	0
État final	Xeq	$1,0 \times 10^{-2} - Xeq = 1,0 \times 10^{-18} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$3,0 \times 10^{-2} - 2 \cdot Xeq = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$Xeq = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

2.2.3.4

$$K_F = \frac{[AgCN_2^-(aq)]_{\text{éq}}}{[Ag^+(aq)] \cdot [CN^-(aq)]_{\text{éq}}^2} = \frac{1,0 \times 10^{-2}}{1,0 \times 10^{-18} \cdot (1,0 \times 10^{-2})^2} = 1,0 \times 10^{20} \quad (\text{sans unité})$$

3. Viscosimétrie et optique (18 points)**3.1.**

3.1.1. Le capillaire doit être thermostaté car la viscosité dépend de la température.

3.1.2. Le débit volumique Q_V diminue lorsque la viscosité augmente, car le liquide est alors moins fluide et les forces de frottement sont plus importantes.

3.1.3. La viscosité dynamique η s'exprime en Poiseuille, soit dans le système international en $kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$.

3.1.4. La courbe obtenue lors de l'essai montre que Q_V est proportionnel à ΔP (droite passant par l'origine. Ce résultat est donc en accord avec loi de Poiseuille.

3.1.5. On a l'équation de la courbe $Q_V = 2,0 \times 10^{12} \cdot \Delta P$ et la loi de Poiseuille

$$Q_V = \frac{\pi \cdot D^4}{128 \cdot \eta \cdot L} \cdot \Delta P \quad \text{donc} \quad 2,0 \times 10^{12} = \frac{\pi \cdot D^4}{128 \cdot \eta \cdot L}$$

$$\text{soit} \quad D^4 = \frac{128 \cdot \eta \cdot L \cdot 2,0 \times 10^{12}}{\pi}$$

$$\text{Application} \quad D^4 = \frac{128 \times 0,798 \times 10^{-3} \times 400 \times 10^{-3} \times 2,0 \times 10^{12}}{\pi} = 0,40 \text{ mm}$$

3.1.6.

3.1.6.1 Débit volumique $Q_V = \frac{V_{\text{recueilli}}}{t} = \frac{1,00 \times 10^{-6}}{203} = 4,93 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$

3.1.6.2 Calcul de la viscosité :

$$\eta_{\text{échantillon}}(37^\circ \text{C}) = \frac{\pi \cdot D^4 \cdot \Delta P}{128 \cdot L \cdot Q_V} = \frac{\pi \times (40 \times 10^{-3})^4 \times 12,5 \times 10^3}{128 \times 400 \times 10^{-3} \cdot 4,93 \times 10^{-9}} = 4,0 \text{ mP}$$

3.2.

3.2.1. calcul de l'angle $\alpha = \frac{D}{d} = \frac{0,40 \times 10^{-3}}{25 \times 10^{-2}} = 1,6 \text{ mrad}$

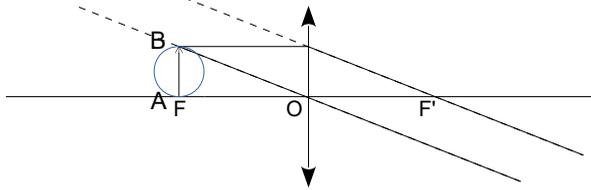
3.2.2. L'angle est supérieur au pouvoir de résolution de l'œil, la technicienne pourra effectivement voir le diamètre intérieur du capillaire à l'œil nu.

3.2.3. La distance focale f' en mètres est l'inverse de la vergence donc

$$f' = \frac{1}{12} = 8,3 \times 10^{-2} m \text{ soit } 8,3 \text{ cm.}$$

3.2.4. Le capillaire doit être placé entre le foyer objet F et le centre optique de la loupe.

3.2.5.



3.2.6. L'angle d'observation à l'infini à travers la loupe est $\alpha' = \frac{D}{f'} = 4,8 \text{ mrad}$.

3.2.7. Le grossissement G est égal au rapport des angles d'observation, soit

$$G = \frac{\alpha'}{\alpha} = \frac{4,8}{1,6} = 3$$

U2 : Biologie moléculaire et génie génétique

Expression spatio-temporelle des gènes *Lin 28a* et *Lin 28b* au cours du développement

1.

1.1.

1.1.1. ARNm, ARN messagers, intermédiaires dans l'expression génétique, traduits en protéine

ARNr, ARN ribosomiques, ARN composant les ribosomes, catalyseurs de la synthèse protéique

ARNt, ARN de transfert, adaptateur entre codon (sur l'ARNm) et l'acide aminé correspondant.

1.1.2. Obtenir des ARN de bonne qualité signifie éviter leur dégradation par les RNases, enzymes très résistantes, ubiquitaires. Pour éviter la dégradation des ARN par les RNases, il faut travailler avec des gants et du matériel stérile à usage unique dédié « RNases free », des solutions et réactifs stériles et dédiés « RNases free », ajouter dans les mélanges réactionnels des inhibiteurs de RNases.

1.1.3.

Étapes	Réactif	Action
Lyse cellulaire	Isothiocyanate de Guanidine	Sel chaotropique lysant les cellules par dénaturation des protéines notamment les RNases !
Extraction des ARN	Phénol acide et chloroforme	<u>Phénol</u> : solvant apolaire, séparant les protéines dénaturées de la phase aqueuse <u>Environnement acide</u> : permet de neutraliser les charges de l'ADN double brin le rendant insoluble, l'ADN se retrouve alors dans la phase organique (alors que l'ARN reste dans la phase aqueuse) <u>Chloroforme</u> : solvant apolaire qui capte les lipides et une grande partie du phénol dissous dans la phase aqueuse
Purification des ARN et concentration	isopropanol	Précipitation des ARN

Pour info :

<http://physiology.med.cornell.edu/faculty/mason/lab/zumbo/files/PHENOL-CHLOROFORM.pdf>

1.1.4. L'ADN, au pH de l'électrophorèse (pH 8), est chargé négativement, avec une densité de charge (naturelle due aux groupements phosphate) constante. L'ADN est déposé dans un gel d'agarose, formant un support poreux au travers duquel l'ADN se déplace sous l'influence d'un champ électrique en fonction de sa masse moléculaire. Les ADN de petite taille migrent plus vite.

1.1.5. En gel, les ADN peuvent être révélées par des colorants spécifiques, souvent fluorescents, comme le bromure d'éthidium, un agent intercalant ou le GelGreenTM se liant au petit sillon de l'ADN. Ces molécules ont la particularité d'avoir une fluorescence naturelle faible et d'être très augmentée par la liaison à l'ADN.

1.1.6. Pic de l'ARNr 18S : fin et étroit, montrant un seul type d'ARN, non dégradé
Pic de l'ARN 28S : double, plus large et moins haut, suggérant un début de dégradation de l'ARN28S

Rapport de l'aire des pics = 2841/1353, proche de 2

Donc les ARN préparés sont de bonne qualité.

1.2.

1.2.1. Reverse Transcriptase (RTase): Transcriptase inverse ou rétrotranscriptase, ADN polymérase ARN dépendante, enzyme permettant la synthèse dans le sens 5'→3' d'un brin d'ADN complémentaire à un ARN matrice, à partir d'une amorce hybridée à la matrice fournissant un 3'OH.

Oligo (dT)₁₈: amorce ADN composée exclusivement de Thymine, s'hybride sur la queue polyA des ARNm et fournit le 3'OH nécessaire à la synthèse d'ADN par la RTase.

1.2.2. L'incubation à 65°C avant l'étape de reverse transcription, permet de dénaturer toutes les structures secondaires présentes dans les ARN et donc favoriser l'étape de rétrotranscription.

1.2.3. 4µL de tampon + 0,5 µL de RNase Inhibitor + 1µL de RTase (reverse transcriptase)

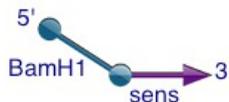
1.3.

1.3.1. L'enzyme clé de la PCR est une ADN polymérase ADN dépendante thermostable. Elle catalyse la synthèse de liaisons phosphodiester entre un 3'OH, fourni par une amorce hybridée à une matrice ADN et un 5'Phosphate d'un desoxyribonucléotide triphosphate. La polymérisation s'effectue dans le sens 5'→3'.

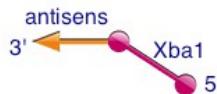
1.3.2. 3 éléments majeurs pour la PCR Lin28a

matrice ADNc Lin28a

Amorce sens :



Amorce antisens :



Les amorces utilisées présentent :

- en 3', une partie complémentaire et encadrant la séquence cible à amplifier (partie horizontale notée sens et antisens),
- en 5', une partie adaptatrice contenant un site de restriction de l'enzyme choisie.

Cycle 1 :

*Dénaturation de l'hybride ARNm/ADNc

* Hybridation de l'amorce sens



* Elongation de l'amorce sens (pol 5'→3')

**Cycle 2 : (uniquement sur le brin synthétisé au cycle 1)**

*Dénaturation

* Hybridation de l'amorce antisens



* Elongation de l'amorce sens (pol 5'→3')

**1.3.3.** Pour chaque des 2 PCR, on observe une seule bande:

- sur la piste 1, entre les marqueurs 500 et 750pb, correspondant à la taille attendue pour Lin28a, soit 566pb

- sur la piste 2, au niveau du marqueur 750pb, correspondant à la taille attendue pour Lin28b, soit 761 pb.

L'amplification est spécifique et conforme.

2.**2.1.****2.1.1.** Le clonage du produit de PCR correspondant à l'ADNc *Lin 28a* dans le vecteur pCS2plus repose sur les étapes suivantes :

- Préparation de l'insert : double digestion du produit de PCR Lin28a par BamH1 et Xba1, les fragments présentent des extrémités cohésives correspondant aux sites BamH1 (côté codon initiateur) et Xba1 (côté codon STOP)

- Préparation du vecteur : double digestion du vecteur pCS2plus par BamH1 et Xba1, le vecteur linéarisé présentent des extrémités cohésives correspondant aux sites BamH1 et Xba1.

- Ligation : mélange du vecteur linéarisé et de l'insert coupé en présence d'ADN ligase.

- Transformation de bactéries chimio-compétentes, puis sélection sur milieu sélectif.

2.1.2. Les bactéries transformées, ont incorporé le plasmide (recombiné ou non) portant le gène de résistance à l'ampicilline. Les bactéries transformées deviennent résistantes à l'ampicilline, il suffit de les étaler sur milieu LB+ ampicilline.

2.1.3. Pour repérer les clones positifs, ayant incorporé le vecteur recombiné (avec insert Lin28a), peuvent être repérés par :

- PCR sur colonie en utilisant les amorces Lin28a, et analyse en gel d'agarose
- par mise en culture de colonies, mini-préparation et double restriction par BamH1 et Xba1, puis analyse en gel d'agarose.

Dans les 2 cas la présence d'une bande à la taille attendue 566pb signale un clone positif.

2.2.

2.2.1. Une ARN polymérase (ADN dépendante), catalyse la polymérisation de ribonucléotides dans le sens 5'→3', de novo (sans amorce) à partir d'une matrice ADN.

2.2.2. Un promoteur est une séquence nucléique, positionnée en amont de l'unité de transcription d'un gène. L'ARN polymérase se lie aux séquences promotrices pour initier la transcription.

2.2.3. Schéma de la zone du vecteur double brin recombiné montrant la position relative des promoteurs SP6 et T7 et des sites de restriction BamH1 et Xba1.



La transcription à partir du promoteur SP6 permet d'obtenir un ARN sens :



La transcription à partir du promoteur T1 permet d'obtenir un ARN antisens :



2.2.4. La sonde antisens a une séquence complémentaire à l'ARNm cible et donc s'hybridera avec celui-ci.

La sonde sens a une séquence identique à celle de l'ARNm cible.

2.2.5. Le marquage des ribosondes à la digoxigénine repose sur le fait d'incorporer le ribonucléotide couplé à la digoxigénine (digoxigénine -11- UTP) lors de la réaction de polymérisation.

3.

3.1. Quatre étapes de l'hybridation *in situ* :

- Préhybridation : incubation en tampon Hybmix
- Hybridation : addition de la sonde marquée à la digoxigénine
- Lavages pour éliminer les sondes en excès non fixées ou les sondes hybridées de façon non spécifique
- Révélation des sondes par un anticorps anti-digoxigénine couplé la phosphatase alcaline, lavages et addition du substrat chromogène

3.2. L'augmenter les conditions de stringence au cours de la première série de lavages est permis par :

- la diminution de la force ionique du tampon de lavage
- l'augmentation de la température

3.3. La sonde « anti-sens » *Lin 28b* révèle les ARNm *Lin28b*

3.4. Document 5b : résultat de l'expérience Contrôle négatif d'hybridation *in situ* avec la ribosonde *Lin28b sens* sur embryons de Xénope à 22 et 31 jours. Sur les 2 clichés on n'observe aucun marquage montrant que la sonde sens ne s'est pas hybridée (notamment sur l'ADN génomique)

Document 5c : résultat de l'expérience d'hybridation *in situ* avec la ribosonde *Lin28b antisens* sur embryons de Xénope à 22 et 31 jours. Sur les 2 clichés on observe un marquage spécifique :

- diffus dans la partie dorsale de l'embryon au stade N22
- bien plus intense et localisé au niveau du cerveau et de la moelle épinière au stade N31.

On peut conclure à une évolution spatio-temporelle du profil d'expression du gène *Lin28b*.

U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

1.

1.1.

Le FAD est lié de manière covalente à l'enzyme. Il s'agit donc d'un groupement prosthétique.

1.2.

Les liaisons en pointillé sont des interactions hydrogène : ce sont des interactions de faible énergie qui s'établissent entre un atome électronégatif (O ou N en général) et un hydrogène lui-même relié de manière covalente à un atome électronégatif.

1.3.

Parmi les acides aminés interagissant avec le FAD, on pouvait citer : Val (262), Ser (101 et 175), Arg (104), Asn (105 et 179), Asp (170), His (122) et Tyr (187) . Le nombre entre parenthèses indique la position de l'acide aminé dans la séquence (à partir de l'extrémité N ter).

1.4.

Une poche hydrophobe est une cavité dans la structure tridimensionnelle de la protéine riche d'acides aminés hydrophobes. On peut par exemple repérer en bas du schéma: Ile (414), Trp (413), Phe (424), Val (185), Pro (169)...

1.5.

Les cylindres représentent des hélices alpha et les flèches pleines des brins bêta organisés en feuillets.

1.6.

Les «liaisons type 1» sont des interactions hydrogène; ce sont des liaisons faibles permettant le maintien de la structure du feuillet bêta (interactions qui s'établissent entre atomes de deux liaisons peptidiques).

Les «liaisons type 2» sont des liaisons peptidiques; ce sont des liaisons covalentes reliant deux résidus d'acides aminés.

1.7.

Le feuillet bêta du domaine représenté est mixte: dans le cadre A par exemple, on observe dans le feuillet, deux brins bêta antiparallèles (orientation opposée) à gauche et deux brins bêta parallèles (orientation identique) à droite.

1.8.

Un domaine est une unité de structure protéique au repliement indépendant, et ayant souvent une fonction spécifique. Cette zone bien délimitée peut contenir entre 40 et 600 acides aminés.

2.**2.1.**

Les méthodes d'immobilisation des enzymes sont :

- soit des immobilisations par rétention physique :
 - inclusion dans une matrice poreuse (alginate ou polyacrylamide par ex),
 - microencapsulation
- soit des immobilisations grâce des liaisons chimiques (covalentes ou faibles) :
 - immobilisation sur un support,
 - (co)réticulation (liaisons des molécules protéiques entre elles)

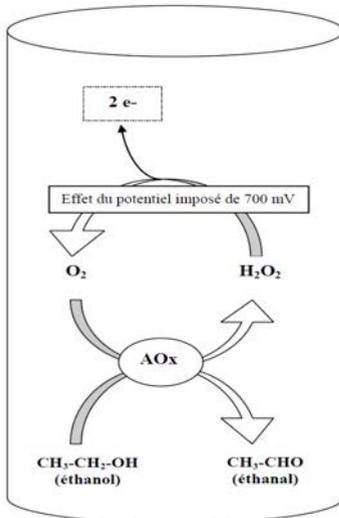
2.2.

L'enzyme est ici piégée dans un polymère (polyuréthane); il s'agit donc d'une immobilisation par inclusion.

2.3.

Parmi les avantages, on trouve: absence de modifications de la structure de l'enzyme (pas liaisons déformantes avec un support ou entre molécules enzymatiques), technique facile à mettre en œuvre, pas de problèmes de toxicité liés à la procédure d'immobilisation.

Parmi les inconvénients, on trouve: limitations diffusionnelles des substrats et produits compte tenu de la présence du polyuréthane, fuites d'enzymes éventuelles, reproductibilité de la technique médiocre d'une électrode à l'autre.

2.4.

3.

$$3.1. \quad V_i = \frac{V_{i_{\max}} \times [S]}{K_M + [S]}$$

K_M (constante de Michaelis) : concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale est égale à la $V_{\max} / 2$ (demi-saturation). K_M est un indicateur permettant d'évaluer l'affinité enzyme-substrat (car généralement assimilable à la constante de dissociation du complexe enzyme-substrat)

$V_{i_{\max}}$: vitesse initiale constatée quand l'enzyme est saturée en substrat ($V_{i_{\max}} = k_{\text{cat}} \times [E]_T$)

3.2.

La détermination du K_M apparent permet de savoir si l'affinité enzyme substrat n'est pas trop impactée par la technique d'immobilisation ou les limitations diffusionnelles.

La détermination de la V_{\max} apparente est un indicateur de l'intégrité physique de l'enzyme: une V_{\max} apparente diminuée indique des pertes d'enzymes active lors de l'immobilisation (pertes d'enzymes, contraintes stériques induisant une diminution d'efficacité de l'acte catalytique, dénaturation d'une partie de la population enzymatique)

3.3.

La concentration catalytique la plus favorable correspond au cas où K_M est faible (affinité élevée) et où I_{\max} (qui traduit une V_{\max} élevée) est forte.

Il est donc judicieux d'évaluer le rapport I_{\max} / K_M : plus il est élevé, plus le processus est efficace. Ceci correspond à l'utilisation d'une solution enzymatique à $400 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$.

3.4.

La sensibilité correspond au coefficient directeur de la droite *Intensité du signal = f(Concentration en éthanol)*. Elle permet d'évaluer la capacité du biosenseur à discerner 2 concentrations en éthanol voisines.

Le seuil de détection est la valeur limite de concentration en éthanol en dessous de laquelle la réponse du biocapteur est nulle ou inexploitable (intensité du signal indiscernable du bruit de fond).

Le seuil de saturation est la valeur limite de concentration en éthanol au-dessus de laquelle la réponse du biocapteur n'est plus exploitable car on sort de la zone de linéarité de la réponse.

3.5.

Conformément aux prévisions présentées au 3.3, la sensibilité est clairement la meilleure pour la solution enzymatique de $400 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$.

3.6.

Il s'agit d'une méthode cinétique de dosage de substrat: on évalue une vitesse de réaction enzymatique dans des conditions où elle est proportionnelle à la concentration en substrat.

(On peut ici exclure une méthode de dosage de substrat en point final car la quantité de substrat consommée au niveau de l'électrode est extrêmement faible.)

4.

4.1.

Le rendement est le rapport des activités totales, généralement exprimé en pourcentage.

$$R = \frac{Z_{\text{étape 2}}}{Z_{\text{étape 1}}} \times 100$$

L'enrichissement est le rapport des activités spécifiques (activité totale ramenée à la masse protéique).

$$E = \frac{Z_{\text{spétape 2}}}{Z_{\text{spétape 1}}}$$

	Activité (Z) U	Activité spécifique ($Z_{\text{sp}} = Z / (m_{\text{prot.}})$) U/mg	Rendement %	Enrichissement
<i>Cell free extract</i>	0,204	0,00144	100	1
<i>DEAE</i>	0,090	0,0225	44	16
<i>Hydroxyapatite</i>	0,046	0,807	23	560

Rq : le tableau indique les rendements et enrichissements par rapport à l'étape initiale ; il était également possible de présenter des rendements et enrichissements étape par étape.

4.2.

Les chromatographies d'affinité sont des chromatographies très spécifiques de la protéine d'intérêt et sont donc particulièrement efficaces. Le taux de purification élevé obtenu lors de la dernière étape est donc cohérent avec le principe de purification par affinité.

4.3.

Les graphiques permettent de déterminer $\log M$ (avec M la masse moléculaire). La masse moléculaire est donc obtenue en prenant $10^{(\log M)}$.

La masse moléculaire déterminée sur le gel TSK G3000SWXL est d'environ $10^{5,4} = 250000$ Da, et d'environ $10^{4,8} = 63000$ Da via la technique SDS PAGE.

4.4.

La gel filtration est réalisée en conditions natives. On obtient donc la masse moléculaire de la protéine native (250000 Da ici), c'est à dire dont la structure quaternaire est maintenue.

La SDS-PAGE est une électrophorèse en conditions dénaturantes. Les sous-unités maintenues entre elles par des liaisons faibles sont donc séparées dans cette technique. Une bande correspond donc à un type de sous-unité de masse moléculaire donnée (63000 Da ici).

Dans la mesure où $250000/63000$ est environ égal à 4, on peut donc penser que l'alcool oxydase d'*Aspergillus ochraceus* est un homotétramère (4 sous-unités identiques).

Rq : Ce raisonnement exclut la présence éventuelle de ponts disulfure entre sous-unités (ce qui est légitime pour une enzyme cytoplasmique); on aurait pu le vérifier expérimentalement en réalisant une SDS-PAGE en conditions réductrices (c'est à dire en présence d'un agent qui réduit les ponts disulfure tel le 2-mercaptoéthanol).

U41 : Microbiologie et génie fermentaire

1. Biologie de Synechocystis

1.1.

1.1.1.

La paroi est de type diderme. La microscopie électronique à transmission montre une membrane externe et ne montre pas de paroi épaisse de peptidoglycane. De plus la membrane externe est annotée sur le schéma 1B (outer membrane).

1.1.2.

Les différents éléments structuraux et moléculaires sont :

- les thylacoïdes ; ce sont les compartiments membranaires contenant les enzymes et pigments de la photosynthèse,
- la ribulose 1,5 biphosphate carboxylase oxygénase notée RuBisCo ; c'est l'enzyme du cycle de Calvin-Benson permettant l'incorporation du dioxyde de carbone,
- les carboxysomes ; ce sont des compartiments de stockage des réserves carbonées.

1.2.

1.2.1.

L'autotrophie correspond à l'assimilation du dioxyde de carbone (forme minérale) comme source de carbone.

1.2.2.

Dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne respiratoire de transport d'électrons sont :

A) NADPH⁺ déshydrogénase → PQ) plastoquinone → B) complexe du cytochrome b6f → PC) plastocyanine → C) cytochrome oxydase.

Le donneur initial d'électrons est la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite (NADPH, H⁺) et l'accepteur final d'électron est le dioxygène.

1.2.3.

Dans l'ordre de leur intervention, les cinq différents éléments de la chaîne photosynthétique sont :

PSII) photosystème II → PQ) plastoquinone → B) complexe du cytochrome b6f → PC) plastocyanine → PSI) photosystème I → Fd_{ox} et Fd_{red} : ferrédoxine

Le donneur initial d'électrons est l'eau (photolyse) et l'accepteur final d'électron est la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP⁺).

1.2.4.

On constate qu'il y a 3 éléments communs aux deux chaînes : PQ) plastoquinone → B) complexe du cytochrome b6f → PC) plastocyanine

1.2.5.

Le gradient électrochimique de protons est créé par le complexe du cytochrome b6f. Le transfert d'électron a un potentiel énergétique suffisant pour permettre un couplage chimio-osmotique. Il y a un transfert membranaire de protons.

1.2.6.

Le gradient chimio-osmotique permet la phosphorylation de l'ADP en ATP par l'ATP synthase.

L'ATP formé permet par exemple la synthèse de glucose.

1.2.7.

L'anion super oxyde, l'hydroxyle radicalaire, le peroxyde d'hydrogène...

1.2.8.

La superoxyde dismutase, la peroxydase, la catalase, la glutathion peroxydase...

1.2.9.

$\alpha = 6$; $\beta = \delta = 12$; $\gamma = 1$; $\varepsilon = 6$

1.2.10.

Pour une molécule de dioxyde de carbone, il faut 3 molécules d'ATP et 2 coenzymes réduits (NADPH,H⁺)

2.

2.1.

2.1.1.

Les efflorescences algales sont dues à un apport massif d'azote ou de phosphate provenant des engrais. Ces éléments étaient limitants et leur augmentation permet une augmentation rapide de la biomasse algale correspondant aux efflorescences.

2.1.2.

Les trois effets sont :

- la consommation de l'oxygène qui disparaît, or il est essentiel pour certains êtres-vivants,
- la diminution de l'intensité lumineuse indispensables à certains organismes phototrophes,
- la production de toxines.

2.2.

2.2.1.

Les paramètres de croissance qui limitent l'utilisation des "open ponds" sont : l'intensité lumineuse, la température, le pH et la concentration en dioxygène dissous et la contamination par les prédateurs.

2.2.2.

Les "open ponds" sont tout de même rentables car les coûts d'installation, de fonctionnement et de maintenance sont très inférieurs à ceux de contrôle et d'installation des bioréacteurs. Il y a moins de contraintes techniques et ils sont plus facilement transposables à grande échelle.

2.2.3.

Le milieu "Oscillatoria 2" est un milieu synthétique (sa composition est parfaitement connue) et minéral (il ne contient aucun élément organique).

2.2.4.

Les différents types trophiques.

La source d'énergie est lumineuse : phototrophe.

Le milieu est minéral :

- la source d'électron est minérale (eau, cf. 1.2.3.), lithotrophe,
- la source de carbone est minérale (dioxyde de carbone, carbonate) : autotrophe,
- il n'y a pas d'exigence particulière : prototrophe.

2.2.5.

La vitesse spécifique de croissance représente la vitesse de croissance de la biomasse

rapportée à l'unité de biomasse. (heure^{-1})

2.2.6.

$$F (\text{L} \cdot \text{h}^{-1}) = V (\text{L}) \times D (\text{h}^{-1})$$

2.3.

2.3.1.

La masse moléculaire du nitrate de sodium est de $85 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ notée M_{NaNO_3} .

Le nombre de mole d'azote n_N est égal au nombre de mole de nitrate de sodium n_{NaNO_3} .

$$n_N = n_{\text{NaNO}_3}$$

$$C_{(N, \text{échantillon})} = \frac{C_{(\text{NaNO}_3, \text{échantillon})}}{M_{\text{NaNO}_3}}$$

$$C_{(N, \text{échantillon})} = \frac{500 (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})}{85 (\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})}$$

$$C_{(N, \text{échantillon})} = 5,9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

2.3.2.

Il est dit dans le texte que $D = \mu_x$ et dans le document 7 que $\mu_x = 0,017 \text{ h}^{-1}$, donc $D = 0,017 \text{ h}^{-1}$.

$$\text{temps de génération} : G = \frac{\ln 2}{\mu_x}$$

$$G = \frac{0,69}{0,017 (\text{h}^{-1})}$$

$$G = 40,6 \text{ heures}$$

2.3.3.

Il a été rappelé en 2.2.6 que $F = D \times V$.

La volume V du fermenteur est de 2 litres et le débit est de $0,017 \text{ h}^{-1}$.

$$F = 2 \times 0,017 = 0,034 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$$

2.3.4.

Quand on passe de $0,5$ à $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, la biomasse augmente, or la concentration en azote est le seul paramètre qui varie. C'est la concentration de $0,5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ qui est limitante.

2.3.5.

Pour une concentration de $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, c'est la densité cellulaire qui devient limitante. Elle est tellement importante que les cellules en périphérie du bioréacteur empêchent la lumière d'atteindre les cellules situées au milieu du bioréacteur.

2.3.6.

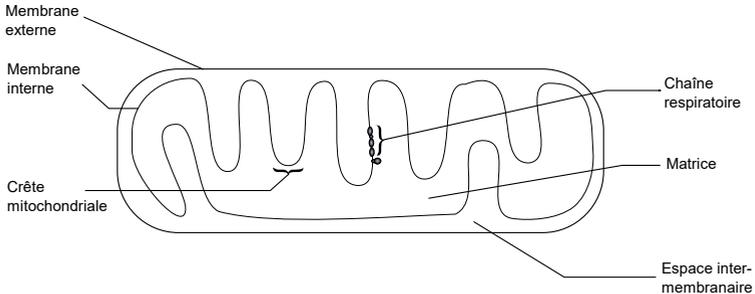
Pour cette même concentration de $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, il faudrait augmenter la surface d'éclairement sans changer le volume et on devrait constater une augmentation supérieure de biomasse.

U42 : Biologie cellulaire

Durée : 2 h – coefficient 1

1.

1.1.



1.2.

Le transport analysé présente une vitesse maximale, donc une saturation au-delà de certaines concentrations de protons. Il s'agit donc d'un transport facilité par une protéine-transporteur.

1.3.

Le transport de protons est permis par le gradient de concentration, il génère donc de l'énergie. Cette énergie est utilisée pour la synthèse d'ATP par le complexe protéique incluant le transporteur de protons, il s'agit de l'ATP synthase.

1.4.

Le système ubiquitine-protéasome permet la destruction de protéines cytosoliques ciblées.

- Les protéines à détruire sont marquées par plusieurs unités d'ubiquitine, qui est elle-même une petite protéine ;
- le protéasome est constitué de sous-unités périphériques, qui reconnaissent ces protéines « ubiquitinylées », et d'une partie cylindrique à laquelle elles accèdent alors ;
- les protéases de la partie cylindrique du protéasome dégradent les protéines marquées et les produits formés (peptides, acides aminés) sont libérés dans le cytosol.

1.5.

La mitochondrie est un organelle qui est bien situé dans le cytoplasme, mais qui est entouré de membranes phospholipidiques et bien plus volumineux qu'une protéine. Elle ne peut donc pas être détruite par le protéasome.

1.6.

A : Noyau B : RE C : Mitochondrie, D : Lysosome, E : Vésicule issue de la fusion entre le lysosome et l'autophagosome.

1.7.

Étape 1 : le processus commence par l'autophagie de la mitochondrie à détruire : englobement de l'organite par extensions du réticulum endoplasmique et formation d'un *autophagosome*.

Étape 2 : la membrane de l'autophagosome fusionne avec un lysosome. La mitochondrie englobée se retrouve alors en contact avec les hydrolases acide du lysosome.

Étape 3 = digestion du contenu de l'autophagolysosome (mitochondrie).

2.**2.1.****2.1.1.**

La lignée MRC5 est d'origine humaine, un risque biologique ne peut pas être écartée. Toutefois, il s'agit d'une lignée non pathologique donc elle ne nécessite pas de précautions particulières autres que les moyens de préventions usuels en culture cellulaire :

- travail sous hotte à flux vertical au sein d'un laboratoire dédié ;
- port d'une blouse, mais aussi de gants en cas de risque de contact direct avec la suspension cellulaire,
- élimination raisonnée des déchets biologiques dans des contenants dédiés.

2.1.2.

Le nombre maximal de repiquage indiqué est de 42 à 46, ce qui signifie qu'au delà les cellules entrent en sénescence. Il ne s'agit donc pas d'une lignée immortelle ou continue, qui permettrait alors une infinité de repiquages.

2.1.3.

Le sérum de veau apporte, d'une part, des facteurs de croissance et hormones qui stimulent la survie et la prolifération des cellules en culture ; et d'autre part des protéines et facteurs d'adhérence qui facilitent l'accroche des cellules sur les supports de culture. (*L'autre effet du sérum, l'inhibition des protéases, n'est pas utile dans le cadre de la culture de cellule mais uniquement lors de leur repiquage.*)

2.1.4.

La stérilisation par filtration se justifie car l'alternative, à savoir essentiellement une stérilisation par chauffage, détruirait les protéines utiles du SVF qui sont thermosensibles.

2.2.**2.2.1.**

Les cellules présentent une morphologie typique de cellules adhérentes de type fibroblastes : peu réfringentes, elles sont allongées et en fuseau.

2.2.2.

L'étape 2 est une étape de lavage, elle permet d'éliminer toute trace du milieu de culture précédent et notamment du sérum, qui contient un inhibiteur de la trypsine.

2.2.3.

La trypsine est une protéase digestive qui hydrolyse, sur un temps d'application court, les protéines assurant l'adhérence des cellules au support. L'incubation à 37°C permet d'augmenter la vitesse d'hydrolyse : c'est la température physiologique de fonctionnement de la trypsine.

L'EDTA est un chélateur des cations divalents du milieu, Mg^{2+} et Ca^{2+} essentiellement. Ces cations sont indispensables aux cadhérines assurant les jonctions adhérentes entre les cellules.

2.2.4.

La durée d'application de la trypsine doit être limitée, car la protéolyse qu'elle catalyse n'est pas limité aux protéines participant à l'adhérence ; si l'application est trop longue toutes les protéines membranaires peuvent être ciblées et dégradées ce qui entraînera la mort de la cellule.

2.3.

2.3.1.

Les principales altérations dues à la congélation sont liées à la formation de cristaux de glace dans et autour des cellules. Ces cristaux peuvent alors détruire les membranes, mais également lorsqu'ils se forment dans le milieu drainer l'eau hors des cellules.

2.3.2.

Le DMSO (comme le glycérol dans d'autre protocoles) joue un rôle de cryoprotecteur. Mélangé au milieu de culture aqueux, il pénètre dans le milieu intracellulaire également et limite la formation de cristaux lors de la congélation.

2.4.

2.4.1.

La technique présentée pour obtenir des fractions est un ensemble de centrifugations successives ou **centrifugation différentielle**.

2.4.2.

L'étape 1 constitue un choc osmotique pour les cellules : sous l'effet de la pression osmotique leur membrane plasmique va se rompre et les organites seront libérés dans le milieu.

2.4.3.

De nombreuses techniques permettent également de faire éclater les cellules. On peut citer l'utilisation d'ultrasons (sonication), la congélation-décongélation, ou l'effet mécanique du broyeur de Potter.

2.4.4.

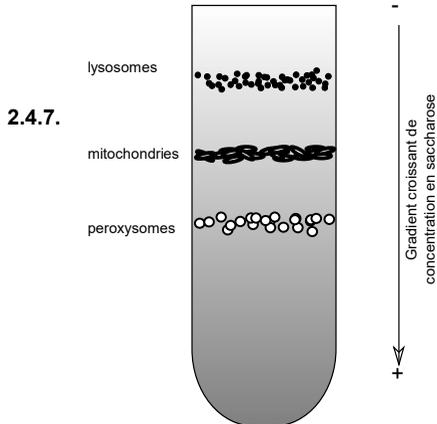
Les mitochondries sont obtenues dans le culot à partir de 10 min à plus de 5000 g. On les retrouve donc ici dans la fraction 2 (15000 g, 15 min).

2.4.5.

La fraction 2 comporte cependant également d'autres organites comme les lysosomes et les péroxysomes. Elle n'est donc pas pure.

2.4.6.

La centrifugation en gradient de densité consiste à réaliser un gradient continu de concentration en saccharose entre le fond et la surface d'un tube à centrifuger. La fraction à purifier (ici la fraction 2) est déposée sur ce gradient, puis une centrifugation prolongée avec une forte accélération est appliquée. Les organites vont se stabiliser dans le tube en bandes successives, chaque organite s'équilibrant dans la zone du gradient correspondant à sa densité. On peut ensuite récupérer les fractions soit par piquetage depuis la surface, soit par ouverture d'un orifice au fond du tube.



3.

3.1.

Apoptose : mort cellulaire programmée ou déclenchée par un mécanisme de signalisation intra- ou extracellulaire.

3.2.

Les facteurs déclenchant l'apoptose peuvent être d'origine interne à la cellule (lésions importantes de l'ADN, protéines anormales, dérivés toxiques de l'oxygène...) ou d'origine externe (perte de facteurs de croissance, messagers de mort cellulaire).

3.3.

Les signaux proapoptotiques aboutissent au décrochage de Bcl-2, qui tant qu'il était présent empêchait la formation de dimères de Bax.

Les dimères de Bax se forment donc et constitue des pores qui laissent sortir le cytochrome C (molécule A) de la mitochondrie. Le cytochrome c permet la formation de l'apoptosome, qui aboutit au clivage de la procaspase 8 (molécule B) en caspase 8 (molécule C). Les caspases s'activent alors en cascade et exercent leur action protéolytique sur de nombreuses protéines cytosoliques et nucléaires, provoquant le mécanisme d'apoptose. (Fragmentation de la chromatine, des organites, désorganisation du cytosquelette, formation de corps apoptotiques.)

Session 2015 : Sujets et éléments de corrigé

2015 – U11 : Mathématiques

Durée 2 h – coefficient 1

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies. L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé. Le formulaire de mathématiques est joint au sujet. La calculatrice est autorisée.

EXERCICE 1 (11 points) : Pharmacocinétique

On s'intéresse à une maladie dégénérative de l'œil qui occasionne des troubles de la vision. Afin de freiner son évolution, deux traitements sont possibles. Dans cet exercice, on étudie, pour ces deux traitements, l'évolution de la quantité des principes actifs présents dans le sang en fonction du temps.

Les parties A et B peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Étude du premier traitement

Les questions 1 et 2 peuvent être traitées de façon indépendante.

Le premier traitement consiste à faire absorber au malade par voie orale un médicament qui libère peu à peu le principe actif qui passe dans le sang. Il est efficace lorsque la quantité de principe actif est supérieure ou égale à 5 mg. On admet qu'à l'instant $t = 0$ la quantité de principe actif présente dans le sang est de 1 mg.

1. Résolution d'une équation différentielle

L'évolution en fonction du temps (exprimé en heures), de la quantité de principe actif présente dans le sang après absorption (exprimée en mg) est modélisée par une fonction vérifiant l'équation différentielle :

$$(E): y' + 0,1y = 2e^{-0,1t}$$

où y est une fonction de la variable t , définie et dérivable sur $[0; +\infty[$ et y' la dérivée de la fonction y .

- (a) Déterminer les solutions sur $[0; +\infty[$ de l'équation $(E_0): y' + 0,1y = 0$.
- (b) Soit h la fonction définie sur $[0; +\infty[$ par $h(t) = 2te^{-0,1t}$. Vérifier que h est une solution particulière de (E)
- (c) En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
- (d) Déterminer la solution de (E) correspondant au problème posé.

2. Étude d'une fonction

Soit la fonction f définie pour tout t de l'intervalle $[0; +\infty[$ par $f(t) = (2t + 1)e^{-0,1t}$.

(a) On admet que la limite de f en $+\infty$ est 0.

Interpréter graphiquement cette limite.

(b) On note f' la fonction dérivée de f et on admet que $f'(t) = (1,9 - 0,2t)e^{-0,1t}$.

i. Étudier le signe de $f'(t)$ sur l'intervalle $[0; +\infty[$.

ii. Dresser le tableau des variations de f sur $[0; +\infty[$.

Application :

(a) Au bout de combien de temps la quantité de principe actif dans le sang sera-t-elle maximale ?

(b) Sur quel intervalle de temps le médicament sera-t-il efficace ?

Dans cette question, toute trace de recherche, même incomplète, ou d'initiative même non fructueuse, sera prise en compte dans l'évaluation.

(c) On donne :

$$\int_0^{24} f(t) dt = 210 - 690 e^{-24}.$$

Déterminer la quantité moyenne de principe actif présente dans le sang entre 0 et 24 h. On arrondira le résultat au dixième.

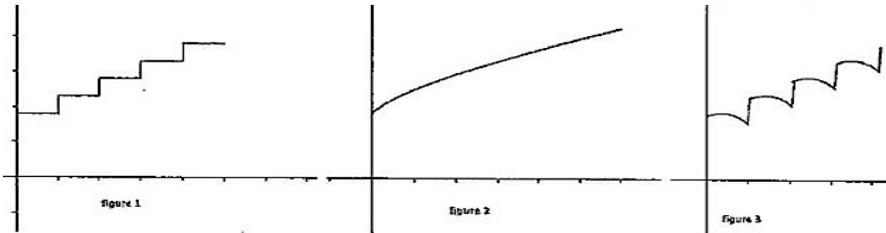
PARTIE B : Étude Statistique du second traitement

Le second traitement consiste à injecter par intraveineuse un médicament qui permet une meilleure vascularisation des vaisseaux sanguins de la rétine. À l'instant $t = 0$, on injecte une dose de 1,8 mg de médicament, appelée dose de charge. On suppose que ce procédé diffuse instantanément dans le sang le principe actif qui est ensuite progressivement éliminé par les reins.

1. Administrations répétées du médicament

On décide de réinjecter une dose de 1,8 mg toutes les heures, dose supportable par le patient.

Parmi les trois courbes suivantes, quelle est celle qui représente le mieux l'évolution de la quantité de médicament présente dans le sang ? Argumenter votre choix.



2. Administration continue du médicament : recherche de la courbe de tendance

Après avoir injecté la dose de charge de 1,8 mg, on décide d’administrer ce médicament à l’aide d’une pompe, de manière continue, afin de réduire le plus possible les oscillations de la quantité de principe actif dans le sang.

L’étude consiste à déterminer l’état stationnaire (steady state) pour ce médicament. On considère que l’état stationnaire est atteint lorsque la différence entre la quantité limite et la quantité dans le sang est inférieure ou égale à 1 mg.

On effectue sept mesures régulières pendant 24 h et on obtient les relevés suivants, où q_i désigne la quantité en mg de principe actif dans le sang à l’instant t_i .

t_i (en heure)	4	8	12	16	20	24
q_i (en mg)	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7

On cherche à modéliser l’expression de la quantité de principe actif dans le sang en fonction du temps. Un ajustement affine n’étant pas judicieux, on décide de procéder à un changement de variable.

(a) On pose $y_i = \ln(36 - q_i)$

i. Donner les 3 valeurs manquantes de ce tableau. Arrondir au centième.

t_i	0	4	8	12	16	20	24
q_i	1,8	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7
y_i	3,53	3,28			2,51	2,22	

ii. Déterminer, à l’aide de la calculatrice, une équation de D la droite d’ajustement de y en t par la méthode des moindres carrés. Arrondir les coefficients au centième.

(b) Donner une expression de la quantité q en fonction de t déduite de cet ajustement.

Dans cette question, toute trace de recherche, même incomplète, ou d’initiative même non fructueuse, sera prise en compte dans l’évaluation.

(c) Un médecin affirme que l’état stationnaire est atteint en moins de trois jours. En admettant que la quantité limite est de 36 mg, quel argument peut-il fournir pour justifier cette affirmation?

EXERCICE 2 (9 points) : Industrie agroalimentaire

L'entreprise agroalimentaire Flavornuts fabrique des arômes naturels servant à l'amélioration des préparations culinaires pour la pâtisserie ou la cuisine. Elle les conditionne dans des flacons de 58 mL qu'elle achète à l'entreprise Verremballage, qui conçoit, développe et commercialise des solutions d'emballages primaires composées de flacons standards.

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Étiquetage

« L'étiquetage des denrées alimentaires préemballées est obligatoire (articles R. 112-1 et suivants du code de la consommation). Certaines mentions sont imposées par la législation, d'autres sont facultatives. Toutes sont fournies par les fabricants, sous leur responsabilité. L'étiquetage est constitué par « les mentions, indications, marques de fabrique ou de commerce, images ou signes se rapportant à une denrée alimentaire et figurant sur tout emballage, document, écriteau, étiquette, bague ou collerette accompagnant ou se référant à cette denrée alimentaire (article R. 112-1 du code de la consommation). »

Une fois fabriquées, les étiquettes peuvent présenter deux défauts : un défaut du visuel (graphisme, photo, couleur . . .) ou absence de la date limite de consommation.

On considère les événements suivants :

- A : « la date limite de consommation n'apparaît pas sur l'étiquette ».
- D : « l'étiquette comporte un défaut du visuel » ;

On suppose que les événements A et D sont indépendants.

On admet que les probabilités des événements sont : $p(A)=0,01$ et $p(D)=0,03$

1. Calculer la probabilité qu'une étiquette prélevée au hasard dans la production présente les deux défauts.

2. Calculer la probabilité qu'une étiquette prélevée au hasard dans la production ne présente aucun de ces deux défauts.

PARTIE B : Étude de la contenance

Dans cette partie, les résultats seront arrondis, si nécessaire, à 10^{-2} près.

On définit une variable aléatoire V associant à chaque flacon son volume utile exprimé en mL.

On suppose que V suit la loi normale de moyenne $m= 58$ (valeur annoncée par le fournisseur) et d'écart type $\sigma=0,04$.

Le cahier des charges indique que le flacon est conforme lorsque ce volume appartient à l'intervalle $[57,90;58,10]$

On choisit un flacon au hasard dans la production.

1. Déterminer la probabilité pour qu'il soit non conforme.

2. Donner une valeur arrondie au centième du réel h tel que :
 $p(58-h \leq SV \leq 58+h) = 0,95$.

Toute trace de recherche sera prise en compte dans l'évaluation.

PARTIE C : Test d'hypothèse

À l'occasion d'une commande, le service contrôle du laboratoire reçoit un lot de flacons. Il effectue un prélèvement aléatoire de 80 flacons. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Volume	[57,93;57,97[[57,97;58,01[[58,01;58,05[[58,05;58,09[[58,09;58,13[
Effectif	2	10	39	21	28

1. Calculer la moyenne \bar{v} et l'écart type s de cet échantillon (arrondir le résultat à 10^{-3} près) en faisant l'hypothèse que les valeurs observées sont respectivement celles du centre de chaque classe.

2. Construction du test

Le volume des flacons doit être de 58 mL. On se propose de construire un test d'hypothèse bilatéral au seuil de signification de 5 % pour contrôler, au moment de la livraison, la moyenne μ , de l'ensemble des volumes (en mL) des flacons. On note \bar{V} la variable aléatoire qui, à chaque échantillon de 80 flacons prélevés au hasard dans l'ensemble de la production, associe la moyenne des volumes.

On considère :

- l'hypothèse nulle $H_0 : \mu = 58$
- l'hypothèse alternative $H_1 : \mu \neq 58$

Le seuil de signification est fixé à 0,05.

On admet que, sous l'hypothèse H_0 , \bar{V} suit la loi normale $N\left(58 ; \frac{0,04}{\sqrt{80}}\right)$

(a) Parmi les quatre intervalles proposés, lequel utiliseriez-vous pour effectuer le test?
Justifier votre choix.

$$I = \left[58,04 - 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58,04 + 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$J = \left[58,04 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58,04 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$K = \left[58, - 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$L = \left[58, - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

(b) Énoncer la règle de décision du test.

3. Utilisation du test

En utilisant les informations recueillies sur l'échantillon de 80 flacons, le service de contrôle acceptera-t-il cette livraison? Justifier.

2015 – U12 : Sciences physiques et chimiques

Durée 2 h – coefficient 1

Calculatrice autorisée.

La correction de l'épreuve tiendra le plus grand compte de la clarté dans la conduite de la résolution et dans la rédaction de l'énoncé des lois, de la comptabilité de la précision et des résultats numériques avec celle des données de l'énoncé (nombre de chiffres significatifs), du soin apporté aux représentations graphiques éventuelles et de la qualité de la langue française dans son emploi scientifique.

1. Spectrophotométrie et chimie générale (30 points)

Étude d'une solution aqueuse de lugol

Cet exercice comporte une partie 1 de physique sur la spectrophotométrie et une partie 2 de chimie générale. Les deux parties sont indépendantes.

Données pour les deux parties :

- Une solution aqueuse diluée de diiode dans l'iodure de potassium est jaune pâle ; plus concentrée elle est marron.
- Masse molaire atomique de l'iode $M(I) = 127 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Potentiels standard d'oxydo-réduction des couples oxydant / réducteur à 298 K :
 - $I_2(aq) / I^-(aq) \quad : \quad E^\circ_1 = 0,62 \text{ V}$
 - $S_4O_6^{2-}(aq) / S_2O_3^{2-}(aq) \quad : \quad E^\circ_2 = 0,09 \text{ V}$
- 1 Faraday : $1 F = 96500 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Constante des gaz parfaits : $R = 8,31 \text{ J}\cdot\text{K}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Enthalpie libre standard de réaction pour une réaction d'oxydo-réduction :

$\Delta_r G^\circ = -n \cdot F \cdot (E^\circ_{\text{ox}} - E^\circ_{\text{red}})$ avec n le nombre total d'électrons échangés au cours de la réaction d'oxydo-réduction.

- Relation entre la constante d'équilibre et l'enthalpie libre standard de réaction :

$$\ln(K) = \frac{-\Delta_r G^\circ}{RT}$$

Afin de réaliser le test de Gram sur un prélèvement biologique, le technicien d'un laboratoire doit utiliser une solution aqueuse de lugol dont le principe actif est le diiode (I_2). Ses caractéristiques sont les suivantes : 1,0 g de diiode et 2,0 g d'iodure de potassium (KI) pour 100 mL de solution.

Le laboratoire n'a pas été livré et le technicien souhaite utiliser la solution contenue dans un ancien flacon. On notera S_0 cette solution.

Pour qu'elle convienne à la réalisation du test, sa concentration en diiode ne doit pas s'écarter de plus de 10 % de la concentration préconisée.

Le technicien se propose donc de réaliser deux dosages du diiode : l'un par l'étalonnage en utilisant un spectrophotomètre (**partie 1**) et l'autre par titrage avec une solution aqueuse de thiosulfate de sodium ($S_2O_3^{2-}(aq) + 2 Na^+(aq)$) (**partie 2**).

Remarque :

la solution aqueuse de lugol doit son nom au médecin français Jean Guillaume Auguste Lugol.

1.1. Partie 1 : Spectrophotométrie (14 points)

1.1.1. Étude du spectrophotomètre

Le spectrophotomètre utilisé exploite une gamme de longueur d'onde allant de 350 nm à 750 nm. Son monochromateur comporte un réseau possédant 1200 traits par millimètre.

La formule d'un réseau est : $\sin i' - \sin i = k \cdot n \cdot \lambda$.

1.1.1.1 A l'aide du schéma de **l'annexe 1**, donner la signification des différents termes figurant dans cette formule, et préciser les unités dans le système international.

1.1.1.2 Donner la définition du pas du réseau.

1.1.1.3 Le réseau est utilisé en incidence normale. Déterminer les angles d'émergence correspondant aux deux extrémités du spectre pour l'ordre 1.

1.1.2. Dosage par spectrophotométrie

Le technicien a préparé des solutions aqueuses de diiode dans l'iodure de potassium pour différentes concentration en diiode, et réalisé la courbe d'étalonnage donnée en **annexe 1** (à rendre avec la copie).

La solution aqueuse de lugol est diluée 100 fois. Cette nouvelle solution sera notée S_1 .

L'absorbance de la solution S_1 vaut 1,4.

1.1.2.1 énoncer la loi de Beer-Lambert en précisant la signification de chacun des termes.

1.1.2.2 En vous aidant de la courbe de **l'annexe 1**, expliquer en quoi la loi de Beer-Lambert est bien vérifiée.

1.1.2.3 À l'aide d'une construction graphique sur la courbe de l'annexe 1, déterminer la concentration molaire C_1 de la solution diluée S_1 . En déduire la concentration molaire C_0 de la solution S_0 .

1.1.2.4 La concentration massique en diiode de l'ancien flacon est-elle compatible avec les caractéristiques attendues pour le test de Gram ?

1.1.2.5 Pourquoi avoir dilué la solution S_0 de lugol pour réaliser ce dosage ?

1.2. Partie 2 : chimie générale (16 points)

1.2.1. Dosage par titrage.

La solution aqueuse de lugol est diluée 100 fois. Cette nouvelle solution sera notée S_1 comme dans la partie 1.

On dose un volume $V_1 = 20,0$ mL de la solution aqueuse S_1 avec une solution aqueuse de thiosulfate de sodium ($S_2O_3^{2-} (aq) + 2 Na^+ (aq)$) de concentration molaire $C_2 = 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

L'équivalence est atteinte pour un volume de solution aqueuse de thiosulfate de sodium versé égal à $V_2 = 8,1$ mL.

1.2.1.1 Écrire les demi-équations associées aux deux couples oxydant / réducteur mis en jeu.

1.2.1.2 Écrire l'équation de la réaction support de ce titrage.

1.2.1.3 Calculer l'enthalpie libre standard $\Delta_r G^0$ de cette réaction, ainsi que sa constante d'équilibre K à la température de 298 K à partir des potentiels standard d'oxydo-réduction des couples oxydant / réducteur en présence.

1.2.1.4 La valeur de la constante d'équilibre associée à l'équation de la réaction de

titrage est-elle compatible avec l'utilisation de cette réaction pour réaliser ce titrage ?
Expliquer.

1.2.1.5 Déterminer la concentration molaire C_1 en diiode de la solution S_1 .

En déduire la concentration molaire C_0 en diiode de la solution S_0 .

1.2.1.6 Calculer la concentration massique C_{m0} en diiode de la solution S_0 . Ce résultat est-il en accord avec celui obtenu par le dosage par spectrophotométrie ?

1.2.2. Réflexion sur l'obtention d'une solution aqueuse de lugol :

La diiode est un solide violet qui se dissout faiblement dans l'eau selon l'équation :



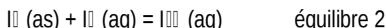
La solubilité du diiode dans l'eau pure est $s = 1,34 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

1.2.2.1 Calculer la concentration C_m d'une solution aqueuse saturée de diiode.

Une solution aqueuse de lugol est obtenue en dissolvant 1,0 g de diiode ($I_2 (s)$) et 2,0 g d'iodure de potassium ($KI (s)$) dans 100 mL d'eau.

1.2.2.2 En comparant la masse de diiode dissoute dans un litre de solution aqueuse de lugol à la solubilité du diiode dans l'eau pure, montrer que le diiode se dissout plus facilement en solution aqueuse contenant des ions iodure que dans l'eau pure.

1.2.2.3 En solution aqueuse le diiode et les ions iodure donnent un complexe de formule $I_3^- (aq)$ selon l'équation de réaction :



La constante de formation K_F de ce complexe est égale à $7,50 \times 10^2$.

1.2.2.3.1 Donner l'expression de la constante de formation K_F en fonction des concentrations molaires.

1.2.2.3.2 Expliquer quelle est l'influence de l'ajout des ions iodure sur l'équilibre 2.

1.2.2.3.3 En déduire l'influence de l'ajout des ions iodure sur la solubilité du diiode.

2. Chimie organique (20 points)

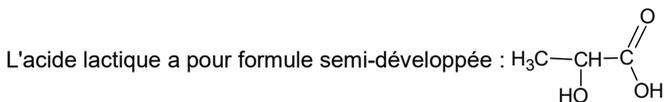
Autour de l'acide lactique

L'acide lactique joue un rôle dans différents processus biochimiques. Il sert également de base à de nombreuses synthèses organiques.

Son obtention par fermentation conduit à un eu stéréoisomère : l'acide (L)-lactique.

Les quatre parties sont indépendantes.

2.1. Étude de la structure de l'acide lactique.



2.1.1. Recopier la formule semi-développée de l'acide lactique sur la copie. Entourer les groupes fonctionnels présents dans la molécule d'acide lactique et les nommer.

- 2.1.2. En utilisant la méthode VSEPR, déterminer la géométrie autour des atomes de carbone portant les groupes fonctionnels.
- 2.1.3. Identifier l'atome de carbone asymétrique présent dans cette molécule. Justifier.
- 2.1.4. Écrire la représentation de Fischer de l'acide (L)-lactique.
- 2.1.5. L'acide (L)-lactique est-il de configuration R ou S ? Expliquer en dessinant la représentation de Cram de la molécule et en donnant l'ordre de priorité des différents groupements.

L'acide lactique obtenu par synthèse chimique conduit à un mélange racémique.

- 2.1.6. Qu'appelle-t-on un mélange racémique ?

2.2. Synthèse du lactate d'éthyle

Le lactate d'éthyle, initialement utilisé comme additif alimentaire, trouve un usage accru comme solvant. Il peut être fabriqué à partir de l'acide lactique et de l'éthanol.

- 2.2.1. Écrire l'équation de la réaction entre l'acide lactique et l'éthanol en utilisant les formules semi-développées. À quelle famille le composé organique formé appartient-il ?
- 2.2.2. Comment nomme-t-on une telle réaction ?
- 2.2.3. Donner deux caractéristiques de cette réaction.

2.3. Synthèse de l'acide acrylique

L'acide acrylique de formule brute $C_3H_4O_2$ est utilisé dans la fabrication de certaines matières plastiques. Il peut être synthétisé en chauffant l'acide lactique en présence d'acide sulfurique selon l'équation de réaction :



- 2.3.1. De quel type de réaction s'agit-il ?
- 2.3.2. Donner la formule semi-développée du produit obtenu.
- 2.3.3. Le produit obtenu est-il optiquement actif ? Justifier la réponse.
- 2.3.4. Le produit obtenu existe-t-il sous plusieurs formes diastéréoisomères ? Justifier la réponse.

2.4. Synthèse de l'acide pyruvique

Sous certaines conditions, l'acide (L)-lactique peut être oxydé en acide pyruvique de formule brute $C_3H_4O_3$. Le spectre IR de l'acide lactique présente entre autres signaux une bande très large et très intense entre 2500 et 3600 cm^{-1} .

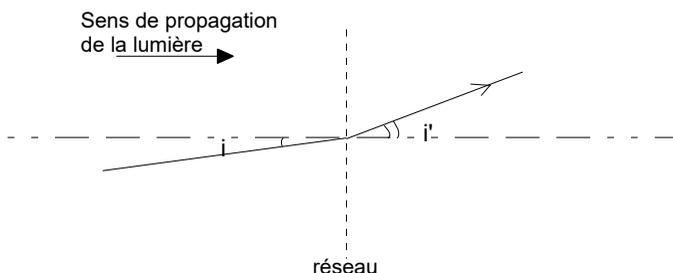
Le spectre IR de l'acide pyruvique présente dans la même zone une bande bien moins intense et qui ne s'étend que de 2900 à 3200 cm^{-1} .

- 2.4.1. Quelle fonction est susceptible d'être oxydée lors de cette réaction ? Les informations IR fournies sont-elles en accord avec cette proposition ?

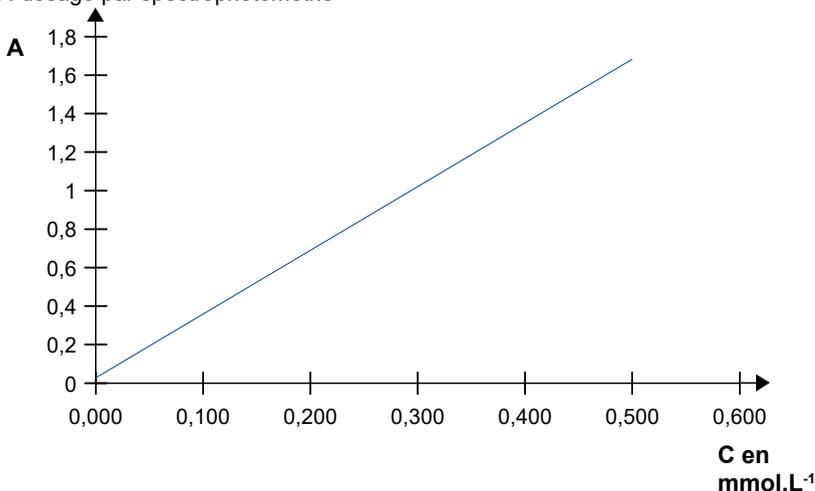
- 2.4.2. Exploiter le spectre RMN de l'acide pyruvique donnée en **annexe 2** pour proposer une structure de l'acide pyruvique. Écrire la formule semi-développée. Attribuer les signaux aux différents atomes d'hydrogène en justifiant. Expliquer le fait qu'il n'y ait que des singulets.

Annexe 1 :
Chimie générale et spectrophotométrie
étude d'une solution de lugol

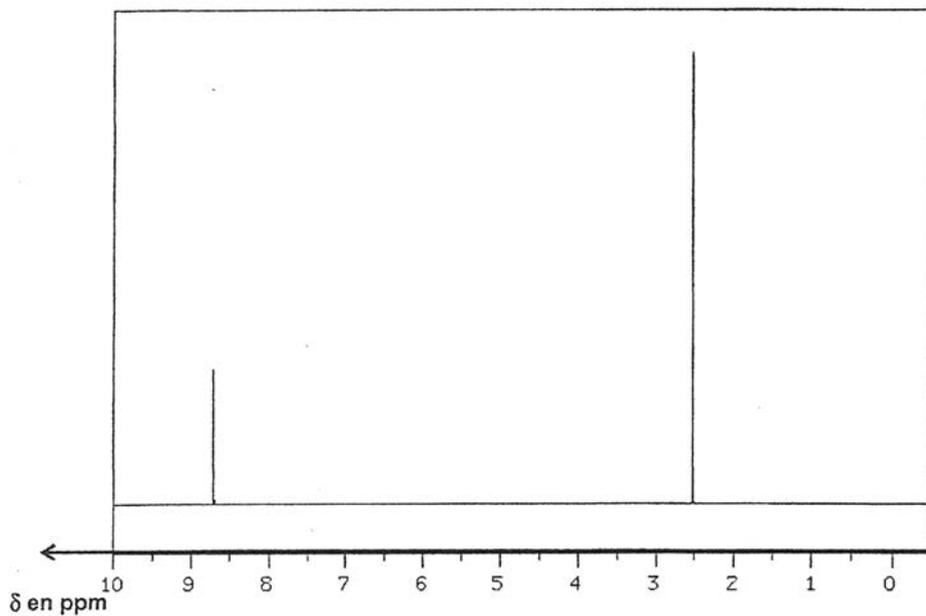
Partie 1 : étude du spectrophotomètre



Partie 2 : dosage par spectrophotométrie



Courbe d'étalonnage : évolution de l'absorbance A d'une solution aqueuse de diiode dans l'iodure de potassium en fonction de sa concentration en diiode.

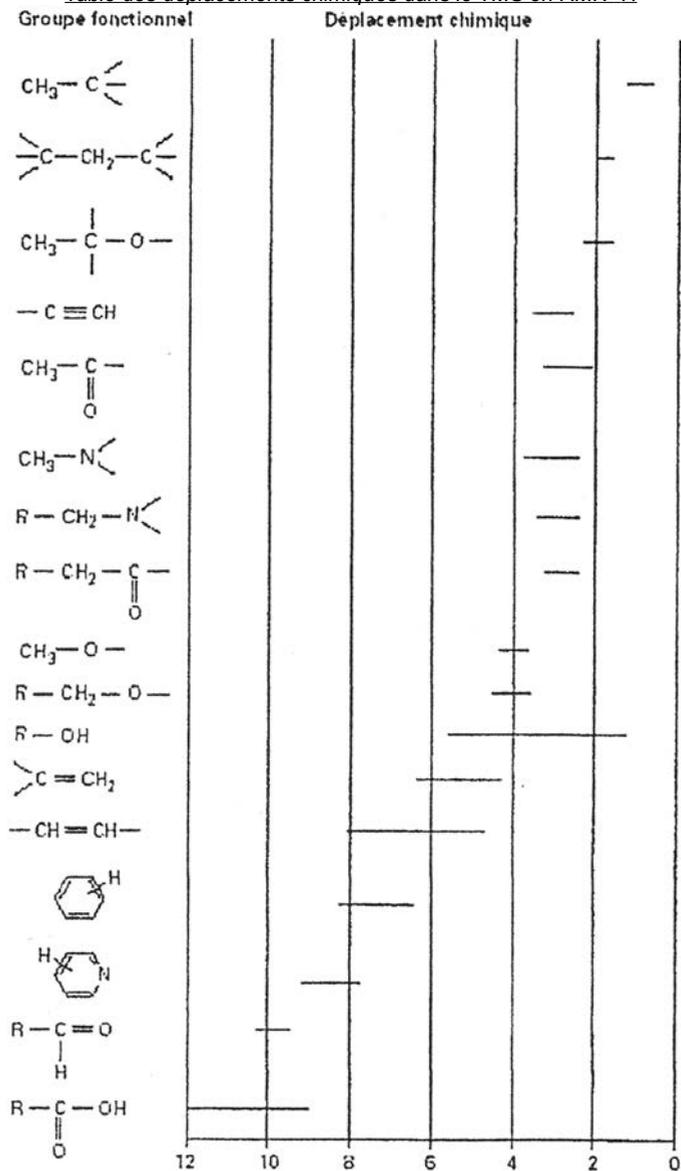
Annexe 2*Spectre RMN de l'acide pyruvique*

Annexe 3*table des nombres d'onde des vibrations de valence et de déformation*

Liaison	Nature	Nombre d'onde(cm ⁻¹)	Intensité F : fort, m : moyen, f : faible
O-H alcool libre	Valence	3580-3670	F; large
Csp-H	Valence	3300-3310	m
O-H alcool lié	Valence	3200-3400	F
N-H (amines+imines)	Valence	3100-3500	m
N-H (amides)	Valence	3100-3500	F
C _{al} -H	Valence	3000-3100	m
C _{ar} -H aromatique	Valence	3030-3080	m
C _{ar} -H	Valence	2800-3000	F
C _{al} -H aldéhyde	Valence	2750-2900	m
O-H acide carboxylique	Valence	2500-3200	F à m; large
C=C	Valence	2100-2250	f
C=N	Valence	2120-2160	F ou m
C=O anhydride	Valence	1700-1840	F; 2 bandes
C=O chlorure d'acyle	Valence	1770-1820	F
C=O ester	Valence	1700-1740	F
C=O aldéhyde et cétone	Valence	1650-1730 abaissement de 20 à 30 cm ⁻¹ si conjugaison	F
C=O acide	Valence	1680-1710	F
C=O amide	Valence	1650-1700	F
C=C	Valence	1625-1685	m
C=C aromatique	Valence	1450-1600	variable;3 ou 4 bandes
N=O	Valence	1510-1580 1325-1365	F; 2 bandes
C=N	Valence	1600-1680	F
N-H amine ou amide	Déformation	1560-1640	F ou m
C _{ar} -H	Déformation	1415-1470	F
C _{ar} -H(CH3)	Déformation	1365-1385	F;2 bandes
P=O	Valence	1250_1310	F
C-O	Valence	1050-1450	F
C-N	Valence	1020-1220	m
C-C	Valence	1000-1250	F
C-F	Valence	1000-1040	F
Csp ² -H de-CH=CH-	Déformation	950-1000	F
(E)	Déformation	650-770	m
(Z)			
C _{ar} -H aromatique monosubstitué	Déformation	730-770 et 690-770	F ;2 bandes
C _{ar} -H aromatique o-disubstitué	Déformation	735-770	F
m-disubstitué	Déformation	750-810 et 680-725	F et m; 2 bandes
p-disubstitué	Déformation	800-860	F
C-Cl	Valence	700-800	F
C-Br	Valence	600-750	F
C-I	Valence	500-600	F

C_{tet} : tétraogonal , C_{tri}: trigonal ; C_{di}: digonal

Annexe 4

Table des déplacements chimiques dans le TMS en RMN ^1H 

2015 – U2 : Biologie moléculaire et génie génétique

Durée 2 h – coefficient 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice est interdite

Amélioration de la résistance au stress hydrique de plantes par modifications génétiques

L'obtention de plantes tolérant mieux la sécheresse constitue un enjeu agronomique considérable.

Les recherches actuelles concernent différents transgènes susceptibles d'améliorer cette résistance, mais aussi des méthodes alternatives à l'utilisation de plantes génétiquement modifiées.

On se propose d'aborder quelques aspects de ces recherches.

1. Apport d'un transgène bactérien (7,5 points)

1.1. Clonage et caractérisation du gène *cspB* de *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*)

Le gène *cspB* de *B. subtilis* est un gène d'intérêt susceptible d'améliorer la résistance au stress hydrique de céréales.

Une banque du génome de *B. subtilis* a été constituée dans *Escherichia coli* (*E. coli*).

Pour cribler cette banque, on construit des oligonucléotides « dégénérés » à partir de la séquence de la protéine CspB. Pour être utilisés comme sondes, ces oligonucléotides sont ensuite marqués au phosphore 32.

1.1.1. Le code génétique est dit « dégénéré ». Préciser la signification de ce qualificatif.

1.1.2. Expliquer comment les oligonucléotides « dégénérés » peuvent être conçus à partir de la séquence protéique.

Le criblage de la banque est effectué après réplique des colonies d'*E. coli* sur une membrane de nylon et fixation de l'ADN génomique de *B. subtilis* hébergé par la bactérie. Le **document 1** présente le protocole de ce criblage.

1.1.3. Indiquer le rôle de l'étape « stringent washes »

1.1.4. Justifier les conditions utilisées lors de cette étape du protocole.

Les sondes oligonucléotidiques permettent de détecter, après hybridation, plusieurs clones positifs.

Le séquençage de l'insert d'un clone positif a conduit aux résultats exposés dans le **document 2**.

1.1.5. Donner la signification des sigles **rbs** et **ORF** figurant dans ce document.

Ce document comporte des informations obtenues par le logiciel BLAST.

1.1.6. Expliquer comment le logiciel BLAST a permis d'obtenir les informations présentées dans le **document 2**.

1.2. Transgénèse médiée par *Agrobacterium tumefaciens* ou « agroflection »

Une société commercialise un maïs transgénique (MON 87460) rendu plus tolérant à la sécheresse par l'apport du gène *cspB* de *Bacillus subtilis*.

Ce maïs a été obtenu par « agroflection », selon le processus suivant :

- Transformation d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens* « désarmée » (c'est-à-dire hébergeant le plasmide Ti dépourvu de sa région ADN-T) par un vecteur binaire contenant un ADN-T synthétique « chargé » avec le ou les transgène(s) d'intérêt.
- Introduction de la bactérie ainsi transformée dans l'espace intercellulaire de la plante.

1.2.1. Indiquer un avantage majeur de l'agroflection par rapport aux autres techniques de transfection des végétaux.

Le **document 3** présente le schéma général d'un vecteur binaire non encore « chargé » avec le transgène d'intérêt.

1.2.2. Préciser la composition et l'intérêt de la séquence « MCS ».

1.2.3. Indiquer les fonctions des séquences « Ori » d'une part, « LB » et « RB » d'autre part.

1.2.4. Rappeler la caractéristique essentielle d'un gène rapporteur.

2. Surexpression d'un transgène végétal (3 points)

L'expression des gènes de résistance à la déshydratation dans le riz est sous le contrôle de la séquence DRE (dehydration-responsive element).

Cette séquence est reconnue par un facteur de transcription DREB (DRE binding protein).

2.1. En prenant l'exemple du couple DRE-DREB, dégager en quelques phrases, **sans schéma**, le principe de l'intervention des séquences cis-régulatrices et des facteurs de transcription dans la modulation de l'expression des gènes eucaryotes.

Le facteur de transcription DREB est codé par le gène *dreb*. A partir des ARNm de ce gène, un ADNc a été synthétisé (ADNc *dreb*). Différentes lignées de riz ont été obtenues par transgénèse additive en intégrant dans leur génome l'ADNc *dreb* placé derrière le promoteur constitutif fort du gène 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur.

Le **document 4** montre le comportement de ces lignées face à un stress hydrique.

2.2. Indiquer l'intérêt de placer l'ADNc *dreb* derrière un promoteur fort.

2.3. Analyser les résultats obtenus puis détailler le lien entre la transgénèse et ces résultats.

3. Mutagenèse aléatoire du gène *nfyA5* et sélection des plantes résistantes à la sécheresse (8,5 points)

La mutagenèse chimique n'est pas considérée comme donnant naissance à des plantes génétiquement modifiées puisqu'aucune séquence d'ADN exogène n'a été intégrée dans le génome de la plante.

Elle consiste à mettre en contact des graines avec un agent mutagène, puis à sélectionner les plantes mutantes d'intérêt.

L'ÉthylMéthane Sulfonate (EMS), est un agent mutagène très utilisé, qui réagit avec la guanine pour former de la O-6-éthylguanine qui s'apparie préférentiellement avec une thymine lors de la réplication.

3.1. Montrer à l'aide d'un **schéma** comment l'EMS peut conduire à une transition G : C \Rightarrow A : T au cours de la réplication.

3.2. Caractérisation de mutants par RT-qPCR

La caractérisation de la surexpression du gène ciblé s'effectue actuellement par RT-qPCR.

Les étapes de la RT-qPCR

Le **document 5** présente les étapes de l'analyse de l'expression d'un gène par RT-qPCR.

3.2.1. Indiquer l'intérêt du « DNase treatment » et le rôle des « random hexamers ».

Le **document 6** présente le résultat d'un contrôle en gel d'agarose de la qualité des ARN totaux.

3.2.2. Analyser l'électrophorégramme. Proposer une conclusion quant à la qualité de la préparation.

La qPCR est réalisée dans un thermocycleur comportant un module fluorimétrique qui permet de suivre en temps réel la cinétique de l'amplification en présence d'un fluorochrome dans le milieu réactionnel : le SYBR[®]Green.

3.2.3. Expliquer en quoi la fluorescence du SYBR[®]Green constitue un indicateur du déroulement, au cours du temps, de l'amplification lors d'une PCR (dite en temps réel).

3.2.4. - Représenter l'allure de la courbe d'amplification obtenue lors d'une PCR en temps réel.

- Positionner le cycle seuil (Ct) sur la courbe.

- Préciser l'évolution quantitative du Ct en fonction du nombre de copies initiales dans le milieu réactionnel.

Le choix d'un gène de référence

La quantification relative en RT-qPCR utilise un « gène de référence », généralement un « gène de ménage » tel que le gène codant la glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH).

3.2.5. Indiquer la qualité recherchée pour un gène de référence.

Des mutants moins sensibles à la sécheresse

Le **document 7** présente le résultat d'une étude réalisée par RT-qPCR sur différentes lignées de la plante modèle *Arabidopsis* obtenues par mutagenèse du gène *nfyA5*.

3.2.6. Analyser le document et proposer une explication aux résultats obtenus.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1**Protocole du criblage**

Nylon transfer membranes were prehybridized in 5 x SSC 1% (weight/volume) blocking reagent for 1 h at 65°C. (1 x SSC is 0.15 M NaCl plus 0.015 M sodium citrate)

The probe was added to the prehybridization mix and hybridized for 5 h at 42°C.

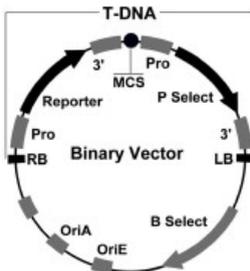
Plaque transfer membranes hybridized with oligonucleotides were subjected to two **stringent washes** : one in 1x SSC 0.5% SDS for 5 min at room temperature and one in 0.2x SSC 0.1% SDS for 15 min at 65°C.

Filters were exposed to Kodak film.

Document 2**Résultats du séquençage**

The DNA sequence revealed that the *mspB* gene is 201 bp in length and encodes a protein of 67 amino acid residues. A strong potential **rbs** (AGGAGGA) is located 6 nucleotides upstream of the initiation codon AUG. The *mspB* **ORF** is followed by two hairpin loop structures similar to rho-independent terminators.

Sequence comparisons with EMBL database revealed 61% identity to the major cold shock protein of *E.coli* and 43% identity to conserved regions of eukaryotic DNA binding transcription factors.

Document 3**Vecteur binaire non « chargé » avec le transgène d'intérêt**

Pro = eucaryotic promoter

3' = 3' signal

RB et LB : right et left border

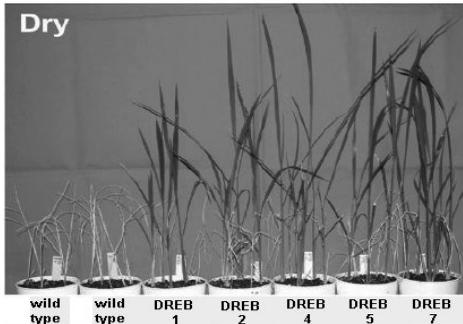
reporter : reporter gene as GUS, LUC, GFP

P Select : plant selectable marker

B Select : bacterial selectable marker

Document 4

Drought tolerance of transgenic rice plants



Les plantes ont été cultivées en pots contenant un mélange de terre et de vermiculite, à 28°C, sous lumière continue.

Ensuite les plantes âgées de 17 jours ont été cultivées 9 jours avec privation d'eau puis 13 jours avec hydratation.

Document 5

Étapes de l'analyse de l'expression d'un gène par RT-qPCR

Total RNA was extracted using trizol reagent.

RNA quality analysis and quantification were performed by agarose-gel analysis and a spectrophotometer measurement, respectively.

DNase treatment was done for preparation of DNA-free RNA prior to RT-qPCR.

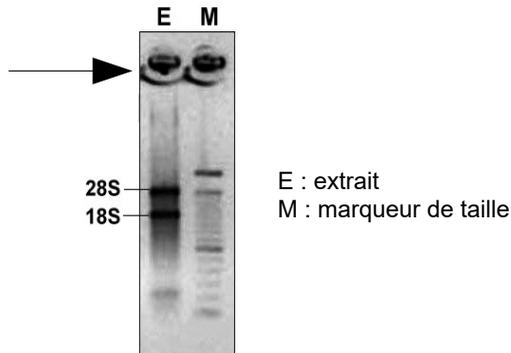
First-strand cDNAs were synthesized by using **random hexamers**.

Real time polymerase chain reactions were performed in 96 well plates using SYBR Green to detect dsDNA (double strand) synthesis. The data were collected after the last (extension) phase.

After the PCR reaction, raw fluorescence data generated in sequence detection was used for the calculation of cycle threshold (Ct) determination.

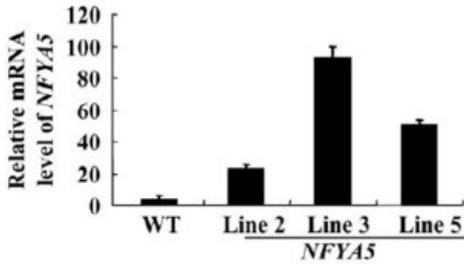
Document 6

Agarose gel electrophoresis of total RNA extract



Document 7

Résultat d'une étude réalisée par RT-qPCR sur différentes lignées d'*Arabidopsis* obtenues par mutagenèse



Étude sur différentes lignées après 14 jours de sécheresse

WT = Wild type : lignée sauvage d'*Arabidopsis*.

2015 – U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Durée : 2 h – coefficient 1

Purification de l'aminopeptidase-N(APN) recombinante et évaluation de l'efficacité d'inhibiteurs sélectifs

L'APN (EC 6.4.11.2) est une ecto-enzyme N-glycosylée, transmembranaire appartenant à la classe des amino-peptidases zinc dépendante. Elle est exprimée à la surface des cellules épithéliales (intestin, rein) et, de cellules du système nerveux central (synapses).

Elle intervient dans la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire.

L'APN est également surexprimée à la surface des cellules tumorales.

Il a été démontré qu'un inhibiteur spécifique de cette enzyme, comme la bestatine, bloque la croissance des cellules tumorales. La conception d'inhibiteurs spécifiques de l'aminopeptidase-N présente donc un intérêt thérapeutique.

La production d'une APN recombinante dans des cellules d'insecte a permis d'évaluer l'efficacité de divers inhibiteurs synthétiques.

1. Caractéristiques de l'APN (5 points)

L'APN catalyse l'hydrolyse de la liaison peptidique à l'extrémité N-terminale de chaînes polypeptidiques.

1.1. Ecrire la réaction chimique catalysée par l'APN en prenant un tripeptide comme substrat. Les molécules seront représentées sous forme semi-développée, et les chaînes latérales des résidus d'acides aminés seront symbolisées par la lettre R.

Le **document 1** présente une structure schématique de l'APN.

1.2. Proposer une technique permettant de déterminer la structure tridimensionnelle d'une protéine.

1.3. Repérer sur le **document 1** les deux principaux domaines structuraux. Préciser leur localisation cellulaire et le type de structure secondaire présent.

1.4. Décrire la structure et préciser la composition et le rôle du site actif d'une enzyme.

Le **document 2** présente le mécanisme catalytique de l'APN.

1.5. Préciser la nature de chacune des interactions de faible énergie repérées 1 et 2.

1.6. A l'aide du document 2, distinguer les acides aminés qui ne participent qu'à la fixation du substrat, de ceux qui interviennent directement dans l'hydrolyse du peptide.

1.7. Préciser le type et le nom du cofacteur de l'APN.

2. Extraction et purification de l'APN recombinante (5 points)

L'APN recombinante est une protéine glycosylée. Des cellules d'insecte ont été choisies comme système d'expression.

2.1. Expliquer pourquoi il est préférable d'exprimer la protéine recombinante APN dans les cellules d'insectes, plutôt que dans une bactérie de type *Escherichia coli*.

Après production, l'APN recombinante est extraite du cytoplasme de cellules d'insectes, puis purifiée selon le protocole présenté dans le **document 3**.

2.2. Le protocole d'extraction et de purification fait intervenir une précipitation différentielle des protéines au sulfate d'ammonium. Exposer le principe de cette technique.

A l'aide des **documents 3 et 4**, répondre aux questions suivantes :

2.3. Calculer la masse de sulfate d'ammonium $m_{(NH_4)_2SO_4}$ ajoutée dans les 500 mL de la fraction F1 pour l'amener de 45 % à 50 % de saturation en sulfate d'ammonium.

2.4. Indiquer le but de la dialyse.

2.5. Présenter sous forme de schémas annotés le principe de la fixation et de l'éluion de la protéine d'intérêt sur la résine échangeuse d'anions.

Donnée : le pHi de l'APN est de 6,8.

2.6. Proposer une autre méthode d'éluion de cette protéine à partir de la résine échangeuse d'anions.

2.7. Préciser les intérêts de l'ultrafiltration réalisée lors de l'étape 6.

3. Suivi et évaluation de la purification de l'APN recombinante (5 points)

Le suivi de purification de l'APN recombinante a été réalisé avec les techniques SDS-PAGE et western blot. Les résultats obtenus pour les fractions F2 et F4 sont présentés dans le **document 5**.

3.1. Analyser les résultats du gel SDS-PAGE et du western blot. Conclure.

La purification a été évaluée grâce à un dosage des protéines par mesure de l'absorbance à 280 nm et un dosage de l'activité enzymatique sur chaque fraction récupérée (F1, F2, F3, F4).

3.2. Citer le ou les acides aminés qui absorbent à 280 nm.

Pour déterminer l'activité enzymatique de chaque fraction récupérée. Le substrat utilisé est la leucine-p-anilide. Son hydrolyse conduit à la p-nitroaniline qui absorbe à 405 nm. La réaction enzymatique se déroule à 30°C dans du tampon à 20 mmol.L⁻¹ de Tris-HCl pH 7,5. L'activité enzymatique des fractions est déterminée par une méthode cinétique.

3.3. Préciser la condition de concentration dans le milieu réactionnel à laquelle le substrat doit satisfaire.

Le **document 6** regroupe les résultats de l'évaluation des étapes de purification.

3.4. Ecrire les équations aux grandeurs et aux unités permettant de calculer les paramètres suivants :

- activité spécifique Z_{sp} (en $U \cdot g^{-1}$) ;
- rendement de purification global
- taux de purification (ou enrichissement) global

3.5. Calculer :

- les activités spécifiques des fractions F1 et F4 ;
- le rendement de purification global;
- le taux de purification (ou enrichissement) global

3.6. Analyser les résultats du rendement et du taux de purification.

4. Evaluation in vitro de l'efficacité d'inhibiteurs sélectifs sur l'APN recombinante (3 points)

Le document 7 présente des inhibiteurs synthétiques de l'APN, candidats médicaments en chimiothérapie anti-cancéreuse. Exploiter ce document pour répondre aux questions ci-dessous.

4.1. A partir de la formule du K_i , montrer qu'un inhibiteur efficace présente une valeur de K_i faible.

4.2. Utiliser les grandeurs K_i et de IC_{50} des inhibiteurs analysés, pour identifier l'inhibiteur le plus efficace. Argumenter la réponse.

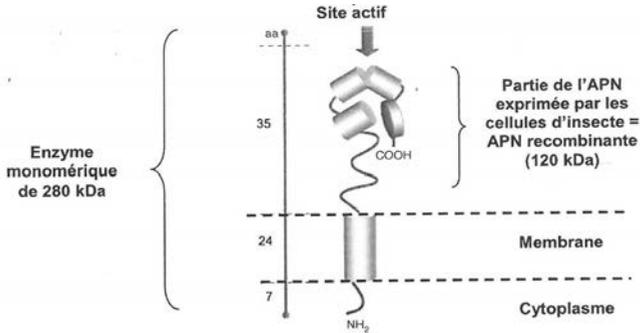
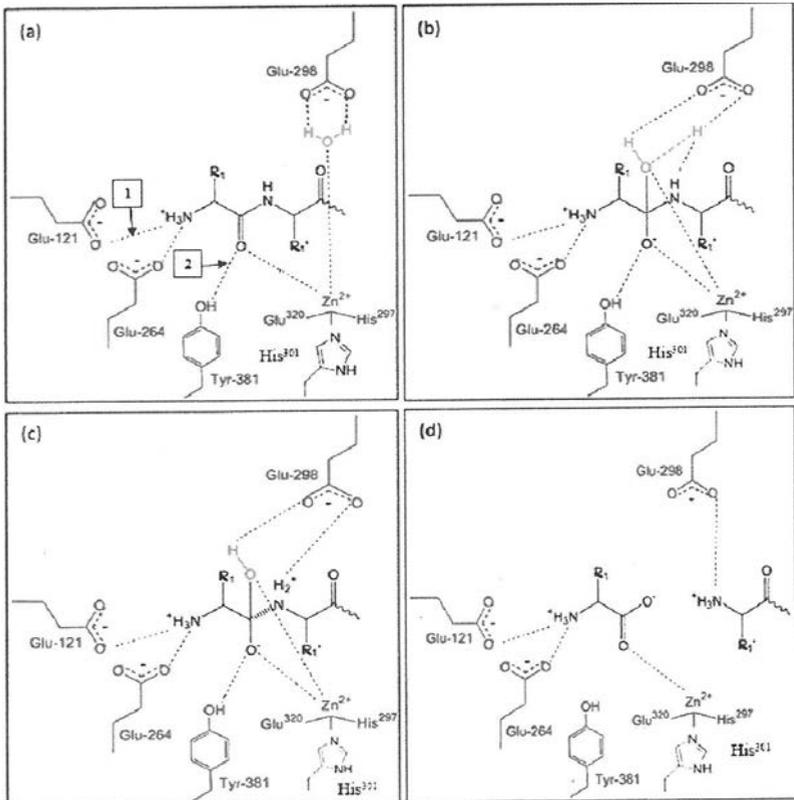
4.3. Indiquer, en le justifiant, le type d'inhibition probable exercée par le 7-amino-6-benzosubérone sur l'APN.

4.4. Après avoir rappelé la signification des paramètres cinétiques d'une enzyme, V_{max} et K_M , expliquer comment varie chacune de ces paramètres lorsque l'enzyme est en présence de l'inhibiteur 7-amino-6-benzosubérone.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1*Structure schématique de l'APN***Document 2***Mécanisme catalytique des aminopeptidases-N*

Document 3**Protocole d'extraction et de purification de l'APN recombinante**

1/ **Centrifugation d'une suspension de cellules d'insectes produisant l'APN recombinante puis élimination du surnageant.**

2/ **Remise en suspension du culot cellulaire dans du tampon de lyse (50 mM Tris-HCl, pH 7,5, 0,5 M NaCl, 5% glycérol et 1% Triton X-100). Homogénéisation et incubation 3 heures à 4°C. Centrifugation du lysat obtenu à 20 000 g pendant 30 minutes à 4°C. Récupération de 500 mL de surnageant correspondant à la fraction soluble F1.**

3/ **Précipitation au sulfate d'ammonium de la fraction F1 : les 500 mL de la fraction F1 sont amenés à 45% de saturation en sulfate d'ammonium. Le culot de sédimentation est éliminé et le surnageant d'un volume de 500 mL est récupéré et amené à 50 % en sulfate d'ammonium. Le surnageant est rejeté. Le culot est repris dans un minimum de tampon 50 mM Tris-HCl, pH 7,5.**

4/ **Dialyse de la solution obtenue (taille des pores 5000 Da). On obtient la fraction F2.**

5/ **Purification de la fraction F2 sur résine échangeuse d'anions Q Sepharose (Fast Flow 50 mL). Pour cela on utilise les tampons suivants : Tampon 50 mM Tris-HCl, pH 7,5/Tampon 50 mM Tris – HCl pH 7,5 + fraction F2/Gradient linéaire en NaCl (de 0 à 0,275 mol.L⁻¹ en NaCl) Les fractions contenant la protéine d'intérêt sont réunies pour donner la fraction F3.**

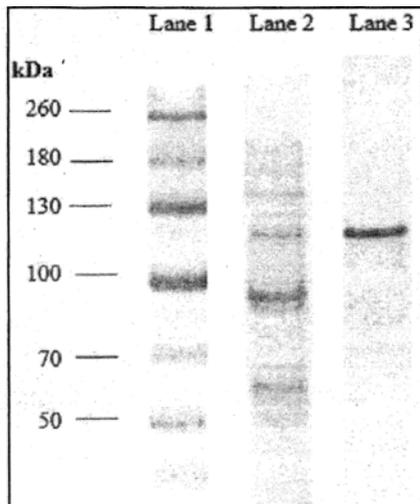
6/ **Ultrafiltration sur cellule Amicon Ultra de la fraction F3 (cellule composée d'une membrane ayant un seuil de coupure de 100 kDa). Après filtration, on obtient la fraction F4 (V_{F4} = 5 mL).**

Document 4

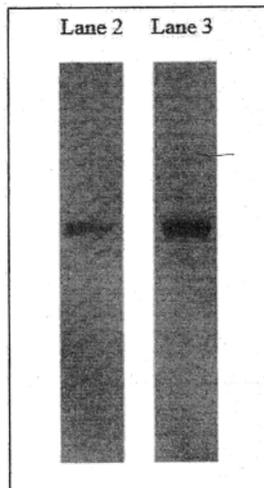
Quantités de sulfate d'ammonium (g) à ajouter à 1 L de solution protéique pour atteindre le pourcentage de saturation souhaité, à 0°C

% de saturation en sulfate d'ammonium à 0°C																	
20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
grammes de sulfate d'ammonium à ajouter à un litre de solution:																	
106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697	0
79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662	5
53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627	10
26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592	15
0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557	20
	0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522	25
		0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488	30
			0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453	35
				0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418	40
					0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383	45
						0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348	50
							0	30	61	93	127	161	197	235	273	313	55
								0	31	62	95	129	164	201	239	279	60
									0	31	63	97	132	168	205	244	65
										0	32	65	99	134	171	209	70
											0	32	66	101	137	174	75
												0	33	67	103	139	80
													0	34	68	105	85
														0	34	70	90
															0	35	95
																0	100

% saturation initiale en sulfate d'ammonium (à 0°C)

Document 5*SDS-PAGE and western blot analyses of F2 and F4 fractions*

A/ SDS-PAGE analysis of purified APN's fractions using a Coomassie Blue staining (Lane 1: protein size markers / Lane 2: F2 fraction / Lane 3: F4 fraction).



B/ Western blot analysis on nitrocellulose transfer membrane using a polyclonal anti APN antibody (Lane 2: F2 fraction / Lane 3: F4 fraction).

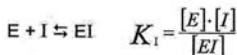
Document 6*Evaluation des étapes de la purification*

Fractions	Volume (mL)	Dosage des protéines (g.L ⁻¹)	Activité catalytique totale z (U)
F1	500	24	119
F4	5	51	54

Document 7

Document 7a : évaluation de l'efficacité de divers inhibiteurs synthétiques de l'APN

This enzyme has been identified as a potential target for cancer chemotherapy. Recently, new inhibitors have been synthesised. These compounds are useful biochemical tools that can be used to characterise new biological functions for APN's catalytic activity. The K_I and IC_{50} values of these compounds have been evaluated on purified APN.

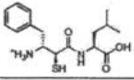
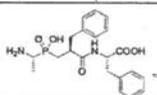


K_i : EI complex dissociation constant

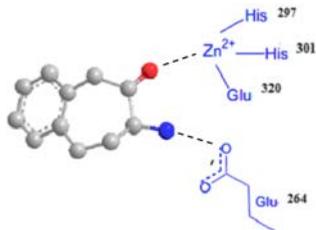
$[E]$: enzyme concentration

$[I]$: inhibitor concentration

$[EI]$: EI complex concentration

Synthetic inhibitors	Structures	Inhibition constant K_I (μM)	Inhibitory Concentration that causes 50% of the inhibitory effect IC_{50} (μM)
Bestatin derivatives		4,4	8,8
Boronic Acid derivatives		0,01	0,02
Phosphonic acid derivatives		0,001	0,002
7-amino-6-benzosuberone	Document 7b	0,007	0,014

Document 7b : mode de liaison proposé de l'inhibiteur 7-amino-6-benzosubérone au site actif de l'APN



2015 – U41 : Microbiologie et génie fermentaire

Durée : 2 h – coefficient 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice n'est pas autorisée

Les biofilms et leur utilisation

Très présents dans l'environnement, les biofilms sont des associations hétérotypiques de micro-organismes parfaitement organisées en structures tridimensionnelles complexes, sur des surfaces inertes ou vivantes. Les communautés microbiennes y vivent en symbiose, et les rôles coopératifs des individus qui les composent peuvent être très spécialisés et différents de ceux rencontrés chez les formes « libres ».

1. Le biofilm foliaire : un habitat particulier (3 points)

Les feuilles de plantes constituent des surfaces vivantes sur lesquelles des biofilms microbiens peuvent être retrouvés. Les bactéries majoritairement rencontrées sont des *Pseudomonas* (35%) et *Xanthomonas campestris* (15 %), les autres se répartissent en une vingtaine d'espèces différentes, dont des bactéries du genre *Erwinia*.

La cohésion entre les espèces bactériennes se réalise grâce aux substances extra-pariétales ou EPS (Extra Polymeric Substances).

1.1. La vie en communauté.

1.1.1. La symbiose est un exemple d'association étroite entre deux ou plusieurs organismes différents.

Préciser, en rappelant leurs caractéristiques, les trois grands types de relation qui existent chez les êtres vivants.

1.1.2. Proposer l'intérêt d'un biofilm de ce type.

1.1.3. Citer un exemple d'EPS bactérien.

1.2. La fixation du diazote.

Parmi les genres présents dans un biofilm foliaire, on rencontre la bactérie diazototrophe *Erwinia* d'autant plus fréquemment que les sols sont pauvres en azote.

1.2.1. Proposer une définition de diazototrophe.

1.2.2. Indiquer le nom de l'enzyme catalysant la fixation du diazote. Préciser le type de réaction dont il s'agit.

2. *Pseudomonas syringae* et la neige artificielle (7 points)

Certains micro-organismes présents sur les feuilles des arbres peuvent jouer un rôle dans la formation des cristaux de glace, lors de l'étape de nucléation de ces cristaux. En grossissant, ces cristaux provoquent alors des blessures, favorisant la colonisation du végétal par la bactérie.

La neige se forme à de basses températures. En « ensemençant » les nuages par des particules servant de base à la cristallisation, il est possible d'obtenir de la neige artificielle à des températures plus élevées, voisines de 0°C.

Les particules utilisées sont un concentré de protéines appelées INa (Ice Nucleation-active protein) et produites entre autres par *Pseudomonas syringae*. La protéine agit directement sur les molécules d'eau, les orientant de façon à accélérer le processus de cristallisation.

Les conditions de production de cette protéine font l'objet d'études.

2.1. Cultures, milieux et conditions de culture.

Le **document 1** indique les conditions de conservation et de culture de *Pseudomonas Syringae*.

2.1.1. Préciser les types trophiques et les exigences éventuelles de la souche, ainsi que ses conditions de culture. Justifier les réponses.

2.1.2. Indiquer un mode de stérilisation de l'air entrant.

2.1.3. Nommer le procédé de culture utilisé. Justifier la réponse.

2.2. Croissance et nucléation

La croissance et la production des points de nucléation par les bactéries en culture est suivie au cours du temps (**document 2**).

2.2.1. À partir de ce document :

- déterminer les différentes phases de la croissance ;
- proposer une hypothèse expliquant l'évolution de la culture à partir de 24 h ;
- estimer la concentration bactérienne minimale permettant une température T50 de nucléation de - 10 °C.

2.2.2. Pour les premières 24 h de culture, calculer les paramètres cinétiques de croissance : $Q_{X_{expo}}$ (vitesse spécifique de croissance de la souche) et G (temps de génération).

2.3. Origine de la nucléation

Des analyses comparatives quant à la présence et l'expression d'un « ice gene » au sein des populations bactériennes montrent que celui-ci dérive d'un ancêtre commun par transfert horizontal, impliquant la conjugaison bactérienne. Il est à l'origine de la synthèse d'une protéine INa ayant une forte affinité pour l'eau et présente dans la membrane externe.

- 2.3.1. Indiquer trois caractéristiques principales de la conjugaison bactérienne.
- 2.3.2. Schématiser les enveloppes des bactéries impliquées dans la conjugaison. Positionner la protéine INA.

3. *Xanthomonas campestris* et le E415 : xanthane (8 points)

Parmi les autres bactéries présentes dans les biofilms, *Xanthomonas campestris*, bactérie aérobique, synthétise du xanthane, polysaccharide ramifié extracellulaire formant une couche visqueuse à l'extérieur de la paroi cellulaire.

Une fois extraite, cette molécule, stable à la chaleur et à l'acidification, peut être utilisée comme additif alimentaire (E415) pour ses propriétés épaississantes et gélifiantes.

3.1. Procédés traditionnels de culture

Les premiers procédés de culture étaient soit des procédés continus en milieu renouvelé, soit des procédés discontinus en milieu alimenté (fed-batch).

- 3.1.1. Comparer sous forme d'un tableau le fonctionnement optimal de ces deux procédés, sur les points suivants : volume de culture, alimentation en substrat, soutirage de culture, concentration en biomasse et en produit (xanthane) dans la cuve.
- 3.1.2. Proposer une hypothèse justifiant le choix d'un procédé continu pour la production de xanthane.

Le **document 3** présente l'évolution de deux vitesses spécifiques (consommation du glucose et production de xanthane) au cours des deux procédés précédents.

- 3.1.3. Écrire la formule littérale du taux de dilution (dilution rate) ***D***, en culture **continue**. Préciser les unités et la signification des grandeurs utilisées.
- 3.1.4. À partir de la formule proposée en 3.1.3 et du principe général de la culture continue, expliquer ce que représente le taux de dilution.
- 3.1.5. Calculer, pour un taux de dilution ***D*** = 0,1 h⁻¹, les rendements de conversion du glucose en xanthane des deux procédés.
Conclure sur le choix du procédé à utiliser dans ces conditions.
- 3.1.6. Préciser le phénomène observé en fed-batch pour ***D*** > 0,1 h⁻¹.

3.2. Amélioration des procédés

Différents points peuvent être optimisés dans cette production, notamment le procédé de culture et la méthode de séparation biomasse - produit.

3.2.1. L'utilisation de procédés discontinus se multiplie et un brevet déposé concernant le dispositif d'agitation est proposé dans le **document 4**.

Schématiser ce dispositif, en représentant les mouvements d'écoulement du milieu de culture.

Justifier son utilisation dans le cadre de la production de xanthane.

3.2.2. Le **document 5** présente un système utilisant des cellules immobilisées.

Identifier les différentes parties du système (n° 1 à 8).

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 point)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1

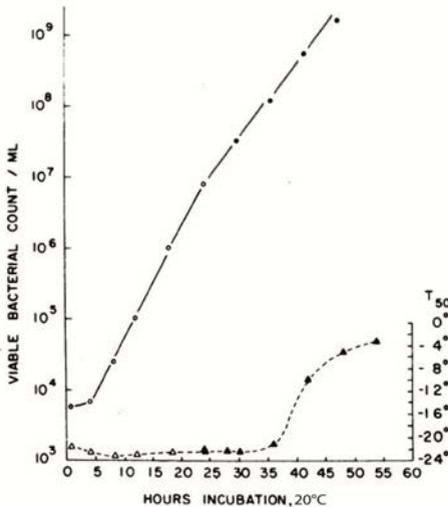
Culture de la souche *Pseudomonas syringae*

Les souches sont conservées sur des géloses trypticase soja (GTS) en pente à température ambiante.

Le milieu de culture de base utilisé pour tous les tests de production de points de nucléation est le bouillon Citrate de Koser (composition ci-après). Les cultures sont réalisées à température de 20 à 25 °C en fioles d'Erlenmeyer, aérées par bullage d'air grâce à un tube de verre passant à travers le bouchon de coton, et plongeant dans le milieu.

Bouillon Citrate de Koser

Citrate de sodium	3,00 g·L ⁻¹
Phosphate d'ammonium et de sodium	1,50 g·L ⁻¹
Phosphate de potassium	1,00 g·L ⁻¹
Sulfate de magnésium	0,20 g·L ⁻¹
pH final à 25°C	6,7 ± 0,2

Document 2*Suivi de croissance et de production des points de nucléation*

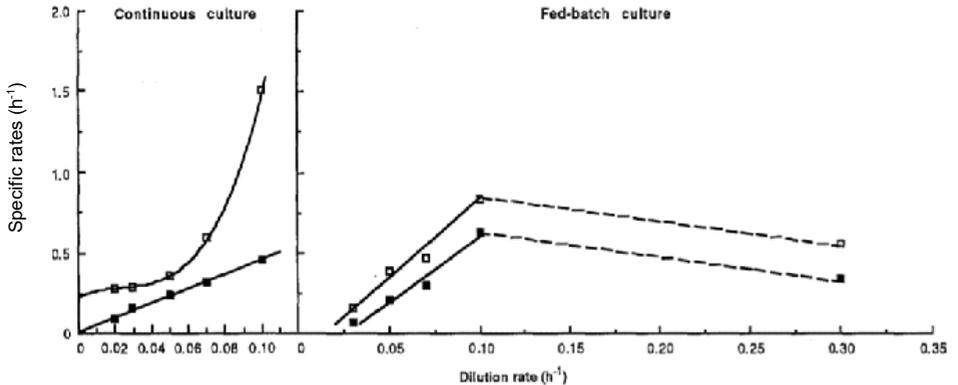
La production de points de nucléation est suivie selon le mode opératoire suivant :

1. Dépôt des gouttes de la culture sur un bloc d'aluminium ;
2. Refroidissement progressif du bloc ;
3. Enregistrement de la température de congélation.

La température T₅₀ est déterminée par l'observation de la congélation de 50% de l'échantillon.

Symbols: ○, 0- to 24-h cultures; ●, 24- to 54-h cultures; △, freezing point (T₅₀) 0- to 24-h culture; ▲, freezing point (T₅₀) 24- to 54-h culture.

Applied Microbiology, sept. 1974, p. 456-59

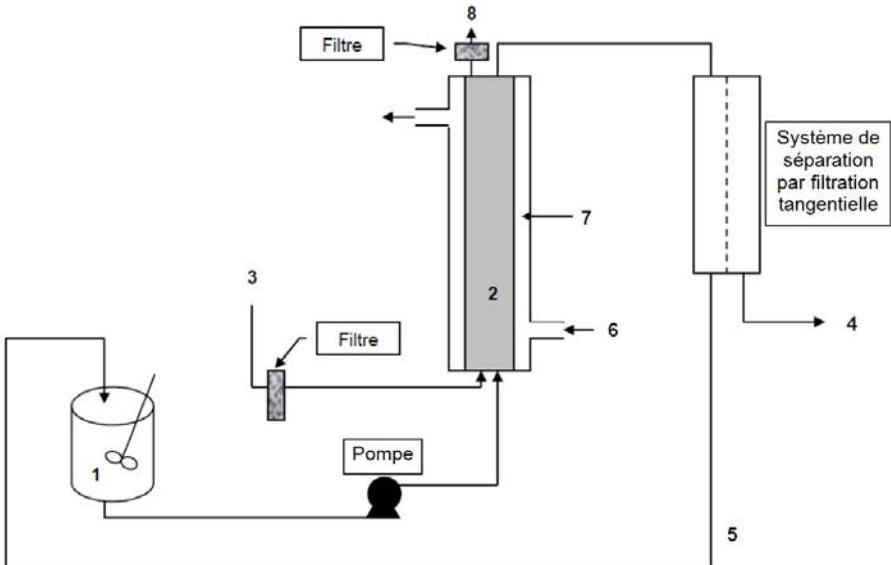
Document 3*Culture de X. campestris en culture continue et en culture alimentée*

Metabolic plot showing □, glucose specific consumption rate; ■, xanthan specific production rate

Applied Microbiology, 1993, 38, p. 709-713

Document 4*Brevet n°US5972695 (extrait)*

“An aerated fermenter for the production of xanthan gum is provided with an upper helical impeller and a lower Rushton turbine impeller and an agitator shaft for driving these impellers.”

Document 5*Culture continue avec cellules immobilisées*

Malaysian journal of Microbiology, 2008, 4, p. 1-5

2015 – U42 : Biologie cellulaire

Durée : 2 h – coefficient 1

Vaccination contre les papillomavirus humains

Les papillomavirus humains (HPV) représentent une vaste famille de virus nus à ADN dont le tropisme est épithélial. Ils sont responsables de lésions de la peau et des muqueuses le plus souvent génitales et à plus long terme du cancer du col de l'utérus chez la femme.

L'infection par le virus HPV est un problème de santé publique. Aussi, plusieurs vaccins ont été développés.

1. Le papillomavirus : un virus oncogène (4,5 points)

Les papillomavirus sont détectés chez des patientes atteintes du cancer du col de l'utérus par la technique « HPV DNA test » (**document 1**).

1.1. A partir du **document 1**, présenter un schéma annoté de l'édifice moléculaire obtenu lors de la détection de l'ADN viral.

Les cellules infectées par le papillomavirus montrent un fort pouvoir de division.

1.2. Représenter sous forme d'un graphe l'évolution de la quantité d'ADN cellulaire au cours des différentes phases du cycle cellulaire. Préciser le nom des différentes phases.

1.3. Localiser deux points de contrôle du cycle cellulaire.

Le **document 2** présente deux modes d'action de la protéine antioncogène p53.

1.4. A partir du **document 2**, dégager deux caractéristiques d'un antioncogène.

Pendant le cycle viral du papillomavirus, la protéine virale E6 se fixe sur la protéine p53 et provoque sa dégradation dans la cellule infectée.

1.5. En déduire un mécanisme de l'oncogenèse induite par le papillomavirus.

2. Les étapes d'élaboration du vaccin A (8,5 points)

Un des vaccins prophylactiques existants, nommé vaccin A, est constitué de pseudo-particules virales ou *Virus Like Particles* (VLP). Ces pseudo-particules virales ont une structure et une morphologie similaires à celles des virions. Elles sont formées de protéines capsidales L1 et possèdent les épitopes nécessaires à l'induction d'anticorps neutralisants. Elles sont dépourvues de génome viral.

Une des particularités de ce vaccin est la production des VLP par des cellules d'insectes infectées par un baculovirus recombinant.

Dans la nature, le baculovirus est protégé dans des corps d'inclusion ou polyèdres (**document 3**), formés par une protéine virale, la polyédrine, que l'insecte ingère. Le suc digestif dégrade les polyèdres, le virus libéré peut alors se multiplier dans l'insecte.

2.1. Schématiser le trajet des électrons permettant l'obtention de chacune des électrographies présentées dans le **document 3**.

2.2. Indiquer les informations apportées par chacune des électrographies ; proposer une estimation de la taille moyenne d'un polyèdre et d'un virion.

2.3. Exploiter le **document 3** pour justifier que les polyèdres sont observables directement au microscope optique.

Le principe de la production d'un vaccin par le système baculovirus-cellule d'insecte consiste à remplacer la région du génome du baculovirus sauvage qui code la polyédrine par un gène d'intérêt qui code une protéine étrangère comme ici la protéine de capsid L1 du papillomavirus, fortement antigénique.

Ce baculovirus modifié, ou baculovirus recombinant, permet ainsi la synthèse de protéines vaccinales en grande quantité dans des cultures d'insectes infectées par ce virus recombinant.

Le **document 4** présente une technique permettant d'identifier les baculovirus recombinants dans un mélange contenant des baculovirus natifs et des baculovirus recombinants.

2.4. Rappeler le rôle du rouge neutre et indiquer à quoi correspondent les plages blanches.

2.5. Établir le lien entre l'aspect des plages de lyse observées au microscope et le repérage des baculovirus recombinants.

Les virus recombinants sont ensuite inoculés sur des cellules d'insectes mises en culture dans le milieu de Grace à 30°C. Le **document 5** présente une photographie prise au microscope inversé d'une culture en flasque de ces cellules.

2.6. A partir de l'étude du **document 5**, argumenter l'absence d'utilisation de trypsine-EDTA lors des repiquages.

La composition du milieu de Grace est présentée sur le **document 6**.

2.7. À partir du **document 6**, construire un tableau à 3 colonnes libellées : «nature des constituants - exemples - rôles» montrant que le milieu de Grace répond aux exigences nutritionnelles des cellules cultivées.

La culture de ces cellules est possible en cytotecteur.

2.8. Expliquer ce qu'est un cytotecteur et préciser les paramètres généralement contrôlés pendant une culture.

3. Étude de l'efficacité du vaccin A (5 points)

La protéine L1 est la protéine majeure de la capsid du papillomavirus humain. A chaque type de HPV correspond un type de protéine L1.

La composition du vaccin A est présentée dans le **document 7**.

3.1. Indiquer le rôle des différents constituants du vaccin A.

Le tableau du **document 8** permet de comparer l'efficacité de trois vaccins dont le vaccin A. Les

valeurs indiquées correspondent à un titre en anticorps obtenu après une injection de rappel.

3.2. Représenter le graphe caractéristique de l'évolution du titre d'anticorps au cours du temps lors d'une première injection de capsides de VLP du virus HPV16 puis lors d'un rappel.

Préciser sur le graphe les classes des anticorps ainsi titrés.

3.3. À l'aide du **document 8**, discuter l'intérêt de commercialiser vaccin A.

Le vaccin A est un vaccin prophylactique. D'autres vaccins sont en cours de développement dans le but de détruire les cellules épithéliales déjà infectées par le HPV : ces vaccins seraient donc thérapeutiques. Leur principe repose sur la stimulation de lymphocytes T cytotoxiques capables de détruire les cellules infectées.

3.4. Décrire les étapes d'un mécanisme d'élimination des cellules infectées par des lymphocytes T cytotoxiques activés.

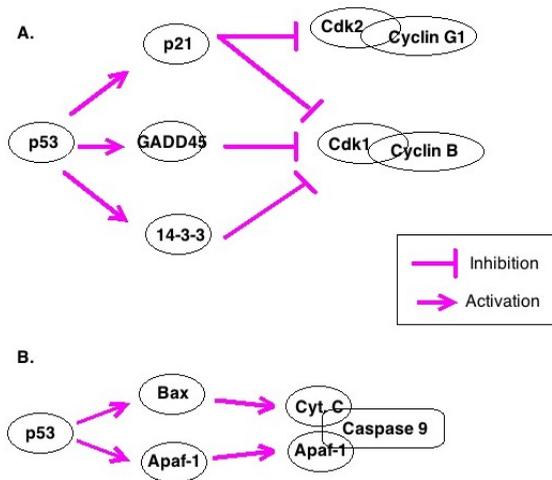
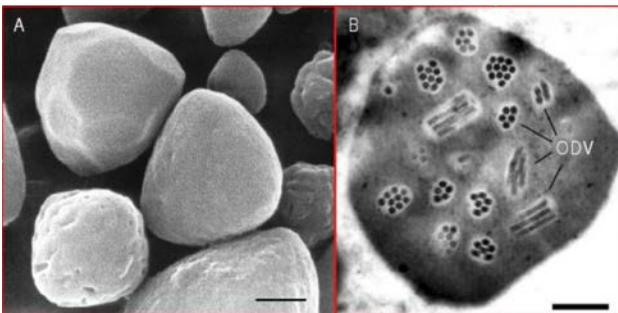
Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points/20)

Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1 :*Principle of detection Human Papillomavirus (HPV) by HPV DNA test.*

To perform the HPV DNA assay, cervical or vaginal clinical specimens are combined with an extraction buffer to release and denature the target HPV DNA. The released target DNA then combines with specific RNA probes to create RNA-DNA hybrids, which are captured onto a solid phase by an antibody specific for the hybrids. These captured RNA-DNA hybrids are then tagged with antibody reagents linked to alkaline phosphatase. A chemiluminescent substrate then produces light that is measured on a luminometer in relative light units (RLUs). The amount of light generated is proportional to the amount of target DNA in the original specimen.

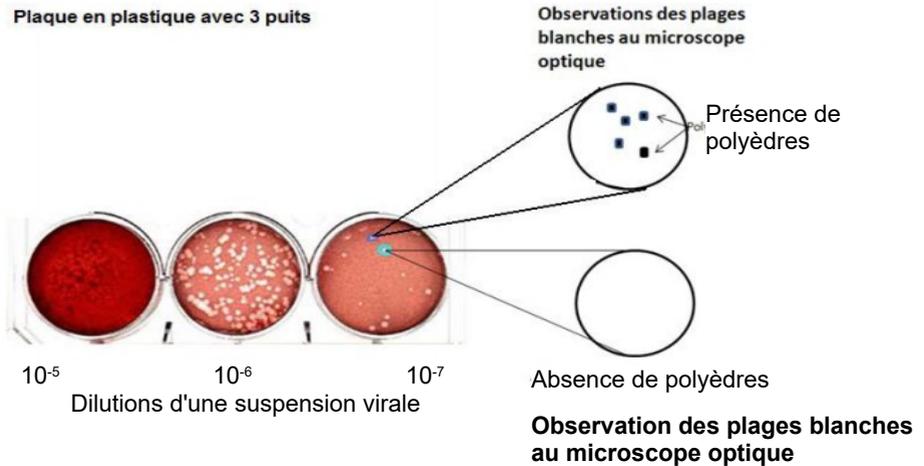
Document 2:*Deux modes d'action de la protéine antioncogène p53***Document 3:***Électronographies de polyèdres de baculovirus*

A. Image de microscopie électronique à balayage des polyèdres de baculovirus (barre = 500 nm).

B. Coupe d'un polyèdre d'un baculovirus observée en microscopie électronique à transmission. ODV : virions occlus. (barre = 200 nm).

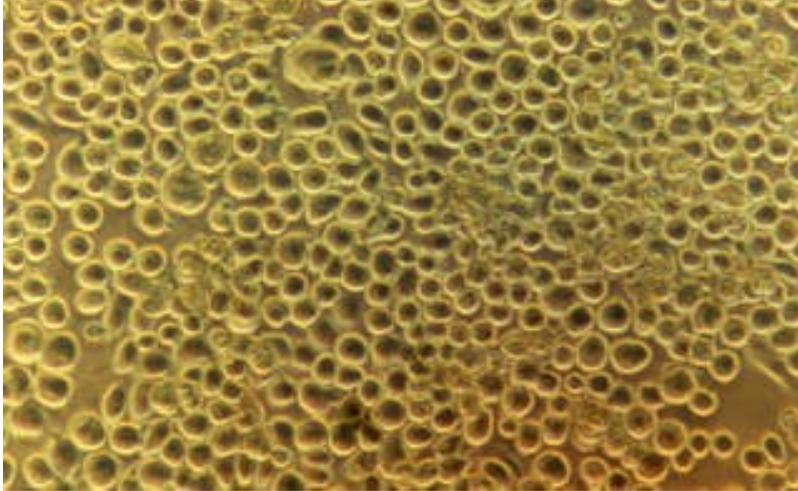
Document 4 :***Sélection des baculovirus recombinants par la technique des plages de lyse*****Étapes :**

- Utilisation d'une plaque formée de puits contenant une culture de cellules d'insecte.
- Ajout d'une suspension de virus obtenus. Différentes dilutions de la suspension virale sont testées.
- Ajout d'une couche d'agarose à 2,5 %.
- Après 5 jours à 28 °C en atmosphère humide, ajout de rouge neutre.
- Observation des plages blanches pour rechercher les virus recombinants.

Résultats :

Document 5 :

Observation au microscope inversé d'une flasque de culture de cellules d'insectes de la lignée sf9

**Document 6 :**

Composition du milieu de Grace

Component	Concn	Component	Concn
	<i>mg/liter</i>		<i>mg/liter</i>
L-Alanine	200	Sodium acetate	50
L-Arginine·HCl	400	Sodium pyruvate	100
L-Aspartic acid	300	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	200
L-Cysteine·HCl	100	KCl	2500
L-Glutamic acid	400	CaCl ₂ ·2H ₂ O	400
Glycine	400	MgCl ₂ ·6H ₂ O	400
L-Histidine·HCl	200	MgSO ₄ ·7H ₂ O	400
L-Isoleucine	150	NaCl	4500
L-Leucine	300	Malic acid	250
L-Lysine·HCl	300	α-Ketoglutaric acid	250
L-Methionine	60	Succinic acid	100
L-Phenylalanine	150	Fumaric acid	100
L-Proline	150	Sucrose	5000
L-Serine	300	Fructose	1000
L-Threonine	150	Glucose	5000
L-Tryptophan	100	Trehalose	1000
L-Tyrosine	100	Ascorbic acid	100
L-Valine	150	D-Biotin	1
L-Glutamine	500	Choline·Cl	1
L-Asparagine	300	Folic acid	1
<i>Aseptic Additions</i>		Niacinamide	1
Methylcellulose, 15 centipoises...	500	Ca pantothenate	2
Streptomycin	100	Pyridoxal·HCl	1
Penicillin	100,000 units/L	Thiamine·HCl	1
Nystatin	50,000 units/L	<i>l</i> -Inositol	1
Fetal bovine serum to 10%		Riboflavine	0.1
		B ₁₂	0.002
		KOH to pH 6.5	

Document 7 :*Composition du vaccin A*

Par dose (0,5 ml) :

- Protéine L1 de HPV ⁽¹⁾ de type 16 (20 µg) avec adjuvant AS04
- Protéine L1 de HPV ⁽¹⁾ de type 18 (20 µg)
- Excipients : chlorure de sodium (9 g.L⁻¹), eau désionisée stérile.

⁽¹⁾ HPV = Papillomavirus humain**Document 8:***Study of the efficacy of vaccines against HPV*

	Average antibody titre one month after the booster injection against capsids type			
	HPV6	HPV11	HPV16	HPV18
HPV16 vaccine	0	0	1.5 10 ³	0
Natural infection with HPV16 virus	0	0	0.3 10 ²	0
HPV18 vaccine	0	0	0	1.0 10 ³
Natural infection with HPV18 virus	0	0	0	0.5 10 ²
Vaccine A	0	0	6.0 10 ³	4.0 10 ³

70 % of uterin cancer are caused by HPV 16 or 18.

2015 – ÉLÉMENTS DE CORRIGÉ

Ces quelques corrigés sont proposés pour vous aider dans la résolution des épreuves proposées au BTS.

Ils ne seront d'aucune utilité si vous vous contentez de lire les solutions sans avoir fait l'effort personnel de la réflexion et de la recherche des réponses aux questions proposées.

Ces corrigés sont parfois succincts, en particulier sur des parties de cours, parfois certaines remarques et compléments de cours sont ajoutés pour faciliter la compréhension et peuvent aller au delà de ce qui est exigible à l'examen.

Ce ne sont pas des modèles imposés, d'autres solutions, d'autres démarches sont possibles. *Des imprécisions, des erreurs ont pu se glisser dans les textes, veuillez nous en excuser.*

Pour certaines questions des liens Internet peuvent être proposés en complément.

U11: Mathématiques

EXERCICE 1 (11 points)

PARTIE A : Étude du premier traitement

1. Résolution d'une équation différentielle

a) Les solutions de (E_0) sont de la forme : $y_0(t) = Ce^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$

b) $\forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = 2te^{-0,1t}$

$$\begin{aligned} \text{Donc } h'(t) &= 2e^{-0,1t} + 2t \times (-0,1)e^{-0,1t} \\ &= 2e^{-0,1t} - 0,2te^{-0,1t} \end{aligned}$$

$$\forall t \in [0; +\infty[\quad h'(t) + 0,1h(t) = 2e^{-0,1t} - 0,2te^{-0,1t} + 0,2te^{-0,1t} = 2e^{-0,1t}$$

Donc h est une solution particulière de l'équation (E).

c) Les solutions de (E) sont de la forme :

$$f(t) = y_0(t) + h(t) = Ce^{-0,1t} + 2te^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$$

d) On a $f(0) = 1 \Leftrightarrow Ce^0 + 2 \times 0 \times e^0 = 1 \Leftrightarrow C = 1$

D'où $f(t) = 1e^{-0,1t} + 2te^{-0,1t} = (2t+1)e^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$

2. Étude d'une fonction

$$\text{Sur } [0; +\infty[, \quad f(t) = (2t+1)e^{-0,1t}$$

a) On admet que $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 0$ donc on en déduit que la courbe représentative de f admet une asymptote horizontale d'équation $y = 0$ (axe des abscisses) en $+\infty$.

b) Sur $[0; +\infty[$, on admet que $f'(t) = (1,9 - 0,2t)e^{-0,1t}$

i) Pour tout réel t de $[0; +\infty[$, $e^{-0,1t} > 0$ donc $f'(t)$ est du signe de $1,9 - 0,2t$

$$\begin{aligned}
 1,9 - 0,2t > 0 &\Leftrightarrow 1,9 > 0,2t \\
 &\Leftrightarrow t < \frac{1,9}{0,2} \\
 &\Leftrightarrow t < 9,5
 \end{aligned}$$

ii) On en déduit le tableau de variations de la fonction :

t	0	9,5	$+\infty$
$f'(t)$		+	-
$f(t)$	1	$f(9,5)$	0

$$f(0) = 1$$

$$f(9,5) = (2 \times 9,5 + 1)e^{-0,1 \times 9,5} = 20e^{-0,95} \approx 7,735$$

Application

a) La quantité de principe actif sera maximale quand $t = 9,5$ heures.

b) Le médicament est efficace quand la quantité de principe actif est supérieure ou égale à 5 mg.

Or l'équation $f(t) = 5$ est impossible à résoudre.

Cependant à l'aide du tableau de valeurs de la fonction obtenu à l'aide de la calculatrice, on constate que :

$$f(2,8) \approx 4,99 < 5 \quad \text{et} \quad f(21) \approx 5,27 > 5$$

$$f(2,9) \approx 5,01 > 5 \quad f(22) \approx 4,98 < 5$$

donc on en déduit que le médicament est efficace entre 2,9 heures et 21 heures.

c) On donne $\int_0^{24} f(t) dt = 210 - 690e^{-2,4}$

$$Vm = \frac{1}{24 - 0} \times \int_0^{24} f(t) dt = \frac{1}{24} \times (210 - 690e^{-2,4}) = 8,75 - 28,75e^{-2,4} \approx 6,14 \approx 6,1$$

La quantité moyenne de principe actif présente dans le sang entre 0 et 24 heures est de 6,1 mg.

PARTIE B : Étude Statistique du second traitement

1. Administrations répétées du médicament

La courbe qui représente le mieux l'évolution de la quantité de médicament présente dans le sang est la figure 3 car elle correspond à une décroissance la quantité en fonction du temps puis le fait de réinjecter une dose de charge de médicament toutes les heures.

2. Administration continue du médicament : recherche de la courbe de tendance

a) i)

t_i	0	4	8	12	16	20	24
q_i	1,8	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7
$y_i = \ln(36 - q_i)$	3,53	3,28	3,02	2,76	2,51	2,22	1,99

ii) A l'aide la calculatrice, on obtient l'équation de D la droite d'ajustement de y en t par la méthode des moindres carrés : $y = -0,06t + 3,54$

b) On a :

$$y = -0,06t + 3,54$$

$$\Leftrightarrow \ln(36 - q) = -0,06t + 3,54$$

$$\Leftrightarrow 36 - q = e^{-0,06t + 3,54}$$

$$\Leftrightarrow q = 36 - e^{-0,06t + 3,54}$$

On obtient donc l'expression de la quantité $q = 36 - e^{-0,06t + 3,54}$

c) La quantité limite est de 36 mg.

Le médecin affirme que l'état stationnaire est atteint en moins de 3 jours soit en $3 \times 24 = 72$ heures.

Pour $t = 72$, on a $q = 36 - e^{-0,06 \times 72 + 3,54} \approx 35,542$

Soit une différence de $36 - 35,542 = 0,458 < 1$ mg

Donc l'affirmation du médecin est justifiée.

EXERCICE 2 (9 points)**PARTIE A : Étiquetage**

1) $p(A \cap D) = p(A) \times p(D)$ car A et D sont indépendants.

$$p(A \cap D) = 0,01 \times 0,03$$

$$p(A \cap D) = 0,0003$$

2) $p(\bar{A} \cap \bar{D}) = p(\bar{A}) \times p(\bar{D})$ car \bar{A} et \bar{D} sont indépendants.

$$p(\bar{A} \cap \bar{D}) = (1 - 0,01) \times (1 - 0,03)$$

$$p(\bar{A} \cap \bar{D}) = 0,9603$$

PARTIE B : Étude de la contenance

1)
 $p(57,90 \leq V \leq 58,10) \approx 0,9875$
 donc
 $p(V < 57,90) + p(V > 58,10) = 1 - p(57,90 \leq V \leq 58,10) \approx 1 - 0,9875 \approx 0,0124$

Donc la probabilité que le flacon soit non conforme est égale à 0,01.

2) $p(58 - h \leq V \leq 58 + h) = 0,95$ où V suit une loi normale $N(58; 0,04)$

$$p\left(\frac{58 - h - 58}{0,04} \leq \frac{V - 58}{0,04} \leq \frac{58 + h - 58}{0,04}\right) = 0,95$$

$$p\left(\frac{-h}{0,04} \leq T \leq \frac{h}{0,04}\right) = 0,95 \quad \text{où } T = \frac{V - 58}{0,04} \text{ suit une loi normale } N(0; 1)$$

$$2 \times p\left(T \leq \frac{h}{0,04}\right) - 1 = 0,95$$

$$p\left(T \leq \frac{h}{0,04}\right) = 0,975$$

A l'aide de la calculatrice, on obtient : $\frac{h}{0,04} \approx 1,96$ soit $h \approx 1,96 \times 0,04 \approx 0,08$

PARTIE C : Test d'hypothèse

1. A l'aide de la calculatrice, on obtient : $\bar{v} \approx 58,042$ et $s \approx 0,036$

2. Construction du test

a) Au seuil de signification de 5 % , on calcule l'intervalle de confiance de la moyenne à l'aide de la formule :

$$\left[\mu - 1,96 \times \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; \mu + 1,96 \times \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right]$$

Cela correspond ici à $\left[58 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$ soit l'intervalle L proposé par l'énoncé.

b) Règle de décision du test :

Si $\bar{v} \in L$ alors on accepte l'hypothèse H_0 au seuil de risque de 5 %.

Si $\bar{v} \notin L$ alors on rejette l'hypothèse H_0 et on accepte H_1 au seuil de risque de 5 %.

3. On a $L = \left[58 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right] = [57,991 ; 58,009]$ et

$\bar{v} \approx 58,042$

$\bar{v} \notin L$ donc on rejette la livraison au seuil de risque de 5 %.

U12 : Sciences physiques et chimiques

1.

1.1. Partie 1 : Spectrophotométrie (14 points)

1.1.1. Étude du spectrophotomètre

1.1.1.1

Symbole	Grandeur	Unité
i :	Angle d'incidence	Degré
i' :	Angle de diffraction,	Degré
k :	Ordre du spectre	Sans unité
n :	Nombre de traits par unité de longueur	m^{-1}
λ :	Longueur d'onde	m

1.1.1.2 Le pas du réseau est la distance entre deux traits consécutifs.

1.1.1.3 En incidence normale, $i=0$ donc $\sin i = 0$. on a donc $\sin i' = k \cdot n \cdot \lambda$.

Pour $\lambda = 350 \text{ nm}$ $\sin i'_1 = 1 \times 1200 \times 10^3 \times 350 \times 10^{-9} = 0,42$ donc $i'_1 = 24,8^\circ$

pour $\lambda = 750 \text{ nm}$ $\sin i'_2 = 1 \times 1200 \times 10^3 \times 750 \times 10^{-9} = 0,90$ donc $i'_2 = 64,2^\circ$

1.1.2.

1.1.2.1 Loi de Beer-Lambert : **$A = \epsilon \cdot l \cdot c$** avec

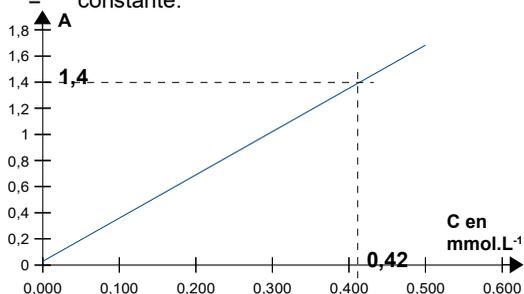
- A : absorbance de la solution,
- ϵ : coefficient d'absorption molaire spécifique du diode,
- l : longueur du trajet optique,
- c : concentration molaire en diode de la solution.

1.1.2.2 La courbe représente l'absorbance en fonction de la concentration molaire. Elle est modélisable par une droite passant par l'origine, donc on a bien proportionnalité entre l'absorbance et la concentration – ce qui correspond à la loi de Beer-Lambert, avec $\epsilon \cdot l =$ constante.

1.1.2.3

Pour une absorbance de 1,4, par un report sur le graphique on obtient $C_1 = 0,42 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

La concentration de S_0 sera donc **$C_0 = 100 \times C_1 = 0,042 \text{ mol.L}^{-1}$**



1.1.2.4 La concentration nécessaire pour le test est de 1g pour 100 mL soit $C_m = 10 \text{ g.L}^{-1}$. L'écart relatif est de 10 % soit $10 \pm 1 \text{ g.L}^{-1}$.

D'autre par la masse molaire du diode est $M_i = 2 \times 127 = 254 \text{ g.mol}^{-1}$.

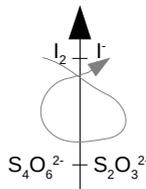
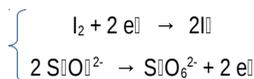
La concentration massique de S_0 est : $C_{mS_0} = 254 \times 0,042 = 11 \text{ g.L}^{-1}$, ce qui est compatible avec les caractéristiques attendues pour réaliser le test de Gram.

1.1.2.5 La loi de Beer-Lambert a un domaine d'application limité à des valeurs d'absorbances peu élevées (inférieures à 1 ou 2 selon les appareils). Au delà l'opacité est telle que le spectrophotomètre sature et la mesure n'est plus fiable. La dilution permet de réaliser les mesures sans saturation.

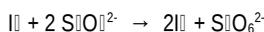
1.2. Partie 2 : chimie générale (16 points)

1.2.1.

1.2.1.1 Demi-équations :



1.2.1.2 Bilan :



1.2.1.3 $\Delta rG_R^0 = -n \cdot F \cdot (E^{\circ}_{ox} - E^{\circ}_{red})$

$$\Delta rG_R^0 = -2 \times 96500 \times (0,62 - 0,09) = -1,023 \times 10^5 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\text{et } \ln K = \frac{-\Delta rG_R^0}{RT} \text{ donc } K = e^{\frac{-1,023 \times 10^5}{8,31 \times 298}} = 8,7 \times 10^{17}$$

1.2.1.4 La valeur de K est très élevée donc l'équilibre de la réaction est intégralement déplacé vers la droite. La réaction peut être considérée comme quasi totale, elle est donc propice au titrage.

1.2.1.5 À l'équivalence : $n_{I_2}(aq) \text{ présents} = \frac{1}{2} \times n_{S_2O_3^{2-}}(aq) \text{ versés}$

$$\text{Donc } C_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{2V_1} \text{ soit } C_1 = \frac{2,0 \times 10^{-3} \times 8,1 \times 10^{-3}}{2 \times 20 \times 10^{-3}} = 4,05 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

on en déduit $C_0 = 100 C_1 = 0,0405 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

1.2.1.6 Concentration massique :

$$C_{m0} = C_0 \times M_{I_2} = 0,0405 \times 2 \times 127 = 10,29 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Le résultat est en accord avec le dosage par spectrophotométrie qui donne $0,042 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ soit moins de 5 % d'écart.

1.2.2.

1.2.2.1 Concentration d'une solution saturée en diiode :

$$C_m = s \times M_{I_2} = 1,34 \times 10^{-3} \times 2 \times 127 = 0,340 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

1.2.2.2 La solution de lugol contient $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de diiode ; cette valeur est nettement supérieure à C_m donc la solubilité est bien meilleure dans une solution d'ions iodure.

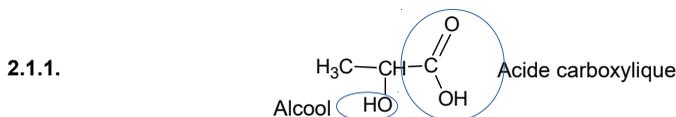
1.2.2.3

$$\mathbf{1.2.2.3.1} \quad K_F = \frac{[I_3^-]}{[I_2] \times [I^-]}$$

1.2.2.3.2 Ajouter des ions iodure déplace l'équilibre vers la droite, ce qui consomme du I_2 .

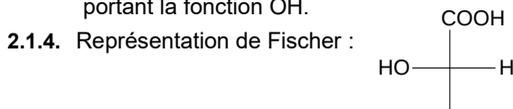
1.2.2.3.3 La solubilité du I_2 augmente donc en présence d'ions iodure, comme constaté expérimentalement.

2.

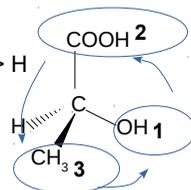


2.1.2. COOH est du type AX_3E_0 donc trigonal plan, le carbone portant le OH est de type AX_4 donc tétraédrique.

2.1.3. Un atome asymétrique porte quatre substituants différents, c'est le cas de l'atome portant la fonction OH.



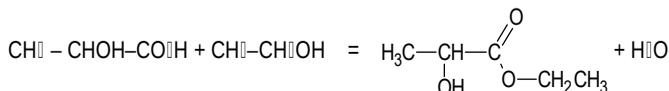
2.1.5. Classement des différents groupements : $\text{OH} > \text{COOH} > \text{CH}_3 > \text{H}$
Rotation dans le sens anti-horaire, donc configuration S :



2.1.6. Un mélange racémique est un mélange équimolaire de deux énantiomères R et S. Il est optiquement inactif.

2.2.

2.2.1.



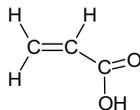
Le composé obtenu est un ester.

2.2.2. Cette réaction est une estérification.

2.2.3. Il s'agit d'une réaction lente, athermique et limitée (non totale).

2.3.

2.3.1. La formation de l'acide acrylique est l'élimination d'une molécule d'eau : c'est une déshydratation.



2.3.2.

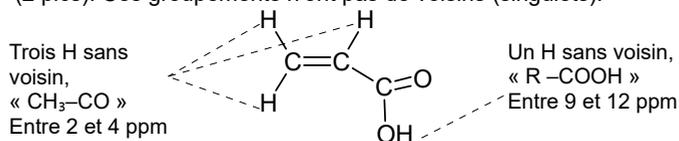
2.3.3. Ce produit n'est pas optiquement actif : il ne contient ni carbone asymétrique, ni aucun élément de chiralité. La molécule obtenue est superposable à son reflet dans un miroir.

2.3.4. Le carbone de gauche porte deux fois le même substituant (H) donc le produit n'existe pas sous deux formes Z/E, donc pas de diastéréoisomères.

2.4.

2.4.1. La fonction alcool C –OH est susceptible d'être oxydée en fonction cétone C=O. Elle absorbe fortement entre 3200 et 3600 cm^{-1} dans l'acide lactique alors qu'elle n'est plus présente dans l'acide pyruvique qui n'absorbe que de 2900 à 3200 cm^{-1} par le OH de sa fonction –COOH.

2.4.2. Le spectre RMN montre deux groupements d'atomes d'hydrogène indépendants (2 pics). Ces groupements n'ont pas de voisins (singulets).



U2 : Biologie moléculaire et génie génétique

1. Apport d'un transgène bactérien

1.1.

1.1.1. Le code génétique est dit dégénéré ou redondant, signifie que plusieurs codons représentent le même acide aminé. Il existe 64 (4^3) codons différents et seulement 20 acides aminés entrant dans la composition des protéines et 3 codons stop (ne codant aucun acide aminés).

1.1.2. On peut construire des oligonucléotides dégénérés en cherchant toutes les séquences nucléiques possibles qui seraient traduites en la séquence protéique d'intérêt. Des oligonucléotides dégénérés n'ont pas tous la même séquence mais codent la même chaîne polypeptidique.

1.1.3. Les lavages stringents sont mis en œuvre pour éliminer les sondes radioactives qui se seraient fixées de façon non spécifiques ou partiellement sur des séquences d'ADN et conduiraient à des résultats appelés faux positifs, ou alors à un bruit de fond.

1.1.4. Deux lavages sont réalisés, le premier lavage (1xSSC, 0,5%SDS, 5min à température ambiante) et le second (0,2xSSC, 0,1%SDS, 15min à 65°C). Trois facteurs augmentent la stringence du lavage: la baisse de la force ionique, l'augmentation de la température et de la durée du lavage.

1.1.5. RBS: ribosome binding site, petite séquence nucléique, située en amont du codon initiateur dans la séquence 5'non codante (5'UTR, untranslated region), permettant le recrutement de la petite sous-unité du ribosome en vue d'initier la traduction.

ORF: Open Reading Frame, cadre ouvert de lecture, c'est la séquence traduite, elle contient un multiple de 3 nucléotides, commençant par un ATG (AUG) et se finissant par un des 3 codons stop (UAA, UAG, UGA).

1.1.6. BLAST, basic local alignment tool. L'outil blast permet d'interroger une banque d'ADN à l'aide d'une séquence requête, le logiciel cherche dans la banque toutes les séquences identiques à la séquence requête et cherche le meilleur alignement, pour lequel les nucléotides sont identiques et sans insertion ni délétion. Cela permet de connaître le gène correspondant à l'ADN séquencé au laboratoire.

1.2.

1.2.1. L'avantage majeur de l'infection par *Agrobacterium* pour transfecter une cellule végétale est que l'ADN à transfecter est toujours intégré dans le génome de la cellule et donc les transfectants sont stables. Il n'est pas nécessaire de maintenir une pression de sélection pour permettre la transmission à la descendance.

1.2.2. MCS : multiple cloning site, site multiple de clonage est un ensemble de sites unique de restriction. Le MCS facilite l'obtention de vecteurs recombinés (portant le transgène d'intérêt)

par clonage orienté avec des enzymes de restriction (restriction/ligation).

1.2.3. Ori= origine de réplication autonome, fonctionnant chez *E. coli*, et permettant d'avoir un grand nombre de copies du même plasmide par bactérie.

RB et LB, sont les sites bordure droite et gauche limitant la zone d'ADN qui sera transférée dans la cellule infectée.

1.2.4. Un gène rapporteur code une protéine qui est facilement dosable, quantifiable, observable.

2.

2.1. L'initiation de la transcription repose sur la coopération entre l'ARN polymérase et des facteurs de transcription obligatoires et facultatifs. Ces derniers permettent une régulation de la transcription.

Lors de l'initiation de la transcription, l'ARN polymérase et les facteurs de transcription (TF) obligatoires se fixent sur les séquences promotrices.

Le cas échéant, un facteur de transcription (comme DREB) se lie à une séquence spécifique située en cis (au voisinage des séquences promotrices), en général appelées RE (Response element).

Selon l'effet du facteur de transcription on observe soit :

- une augmentation de l'efficacité d'initiation par interaction du facteur transactivateur avec le complexe d'initiation, stabilisation la fixation de l'ARN polymérase sur les séquences promotrices et formation de la boucle caractéristique de l'initiation,
- une diminution de l'efficacité d'initiation par, par exemple, encombrement stérique qui empêche la fixation de l'ARN polymérase au promoteur.

2.2. Un promoteur fort permet d'avoir une grande efficacité d'initiation de transcription et donc une production d'ARNm.

2.3. On compare l'aspect de plants de riz sauvage (2 plants) et de plants transgéniques surexprimant la protéine DREB (5 plants) par 39 jours de culture dont 9 avec privation d'eau. On observe que les plants transgéniques ont une taille 2 à 3 fois plus grande que les plants sauvages, indiquant qu'ils ont continué de croître en dépit de la privation d'eau. Ces résultats montrent une meilleure résistance des plants transgéniques à la déprivation d'eau, même si un témoin de culture des plants sauvages et mutants sans privation d'eau aurait montré que la protéine DREB n'était pas un stimulateur de la croissance végétale.

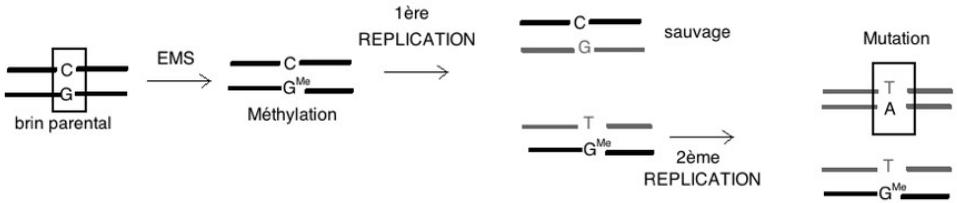
La protéine DREB semble transactiver des gènes impliqués dans la résistance au stress hydrique.

3.

3.1. Le traitement à l'EMS (EthylMéthane Sulfonate), modifie les paires CG en en paire C/G-Me (Guanine méthylée).

La Guanine méthylée s'apparie préférentiellement à la Thymine, donc lors de la première réplication apparaît une paire T/G-Me

Lors de la seconde réplication apparaît une paire A/T, à la même position de la paire C/G initiale d'où la mutation de type transition.



3.2.

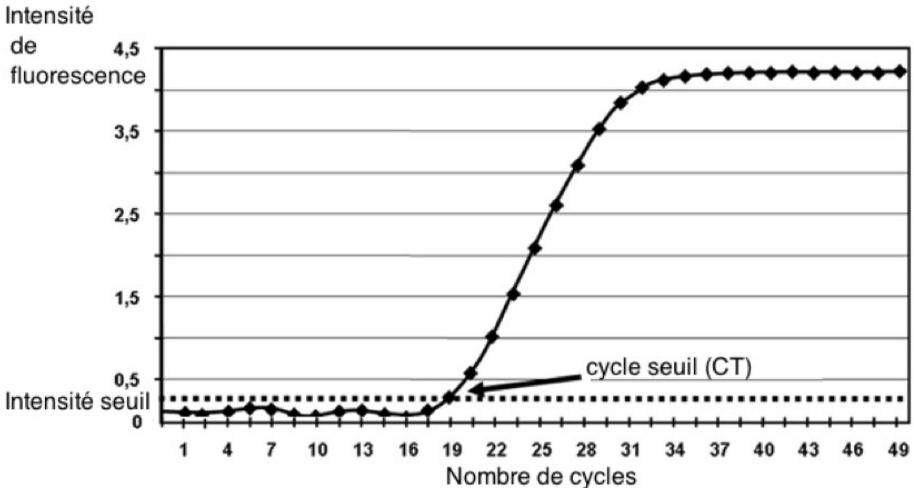
3.2.1. Le traitement à la DNase, permet d'éliminer toute trace d'ADN potentiellement contaminant de la préparation d'ARN, avant l'étape de réverse transcription. Si les ADN cellulaires sont maintenus ils seront utilisés comme matrice à l'étape de PCR, au même titre que les cDNA, ce qui faussera les résultats.

Les « random hexamers » sont des amorces aléatoires de 6 nucléotides, qui peuvent s'hybrider à toutes les séquences ARN présentes et fourniront une amorce avec une extrémité 3' OH à la reverse transcriptase, une ADN polymérase ARN dépendante.

3.2.2 Le gel d'agarose montre 2 bandes majoritaires correspondant aux ARN ribosomique 18S et 28S, leur présence montre que les ARN préparés sont de bonne qualité, on n'observe pas de profil de dégradation.

3.2.3. Le sybr Green est un réactif fluorescent qui se lie à l'ADN double brin et après chaque étape d'élongation, l'intensité de fluorescence est mesurée et correspond à la quantité d'ADN double brin présente donc à la quantité d'ADN amplifié.

3.2.4.



Plus la quantité de matrice initiale est importante, plus le cycle seuil diminue, en effet, il faut moins de cycle pour atteindre la quantité d'ADN correspondant à l'intensité seuil.

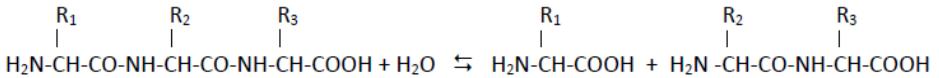
3.2.5. Un gène de référence, ou gène ménage s'exprime de façon ubiquitaire et en quantité quasi constante dans tous les types cellulaires.

3.2.6. Le gène NFYA5 est significativement beaucoup plus transcrit dans les lignées mutantes après 14 jours de sécheresse que dans la lignée contrôle sauvage (wt). Son facteur de surexpression est variable selon les mutants.

U3 : Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

1.

1.1.



1.2.

La structure tridimensionnelle d'une protéine peut être obtenue par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) ou technique de diffraction des rayons X sur cristaux protéiques.

1.3.

On peut visualiser un domaine extracellulaire contenant 4 hélices alpha et un domaine transmembranaire contenant 1 hélice alpha.

1.4.

Le site actif est une zone définie dans la structure de l'enzyme accueillant le ou les substrats de la réaction catalysée. Il regroupe les chaînes latérales de résidus d'acides aminés pouvant être éloignés dans la séquence. Ces résidus interviennent soit pour la fixation du (des) substrat(s) à l'enzyme, soit dans la transformation du (des) substrat(s) à proprement parler (acides aminés catalytiques).

1.5.

L'interaction 1 est une interaction ionique et l'interaction 2 une liaison hydrogène.

1.6.

Le Glu 121 et le Glu 264 interviennent dans la fixation du peptide uniquement.
Le Glu 298 et la Tyr 381 interviennent plus directement dans la catalyse de la réaction d'hydrolyse.

1.7.

La catalyse fait intervenir comme cofacteur un ion métallique : le zinc.

2.

2.1.

E. coli est un système d'expression procaryote. Ce type de cellules ne possède pas de réticulum endoplasmique ni d'appareil de Golgi permettant la glycosylation des protéines.
L'APN ne pourrait pas être correctement maturée dans un tel système et risquerait donc grandement de ne pas être fonctionnelle.

2.2.

Le sulfate d'ammonium est un sel qui, à forte concentration a pour effet d'accaparer les molécules d'eau et de réduire fortement la couche d'hydratation des protéines; ceci entraîne la précipitation des protéines (effet de salting out ou relargage).

La précipitation différentielle exploite le fait que la solubilité est variable d'une protéine à une autre: pour une concentration en sulfate d'ammonium donnée, une protéine peut précipiter tandis qu'une autre reste en solution. Il devient alors possible de les séparer physiquement (centrifugation par ex).

2.3.

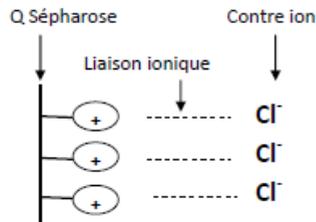
Le pourcentage de saturation initial étant de 45%, on utilise la dixième ligne du tableau du document 4. Pour passer à 50%, il faut ajouter 29g de sulfate d'ammonium par litre de solution protéique. Le volume traité étant ici de 500mL, on ajoutera $29/2 = 14,5\text{g}$ de ce sel.

2.4.

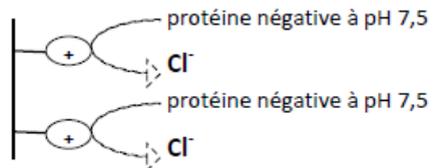
La dialyse a pour but le dessalage de la solution (La membrane utilisée est perméable aux sels mais pas aux protéines).

2.5.

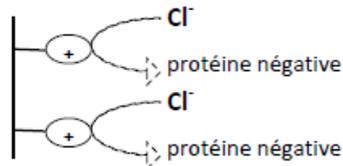
Situation initiale :



Fixation des protéines dont le pHi est inférieur à 7,5 (telles l'APN)



Elution des protéines fixées à pH 7,5 avec un gradient de NaCl (compétition)



2.6.

Il est possible d'éluier l'APN par gradient décroissant du pH de la phase mobile : l'APN chargée négativement à pH 7,5 deviendra neutre quand le pH de la phase mobile atteindra 6,8 (valeur du pHi de l'APN) et se décrochera de la résine.

2.7.

L'ultrafiltration permet :

- la séparation des contaminants ayant une masse moléculaire inférieure à 100 kDa
- la concentration de la protéine d'intérêt

3.**3.1.**

SDS-PAGE (révélation non spécifique):

La piste 2 révèle plusieurs bandes, ce qui indique la présence de nombreuses protéines dans la fraction F2 (dont l'APN a priori)

La piste 4 présente une unique bande, ce qui indique la présence d'une seule protéine en quantité importante et de masse moléculaire environ égale à 120 kDa (correspond à la masse moléculaire de l'APN recombinante)

Western blot (révélation spécifique avec Ac anti-APN):

Les 2 pistes présentent une unique bande mettant en évidence la présence d'APN dans les fractions F2 et F4

On peut donc conclure que la fraction F4 correspond à une solution d'APN recombinante pure.

3.2.

Les acides aminés responsables de l'absorption des protéines à 280 nm sont principalement le tryptophane et la tyrosine.

3.3.

La concentration en substrat pour une mesure d'activité enzymatique doit être standardisée. Le plus souvent, elle est choisie saturante (c'est à dire supérieure à $10 K_M$).

3.4.

$$Z_{sp} = \frac{Z}{C_{\text{protéines}} \times V} \quad \text{Avec} \quad \begin{array}{l} Z_{sp} : \text{activité enzymatique spécifique en U.g}^{-1} \\ Z : \text{activité totale en U} \\ C_{\text{protéines}} : \text{concentration en protéines dans la fraction en g.L}^{-1} \\ V : \text{volume de la fraction en L} \end{array}$$

$$R = \frac{Z_{F4}}{Z_{F1}} \quad \text{Avec} \quad \begin{array}{l} R : \text{rendement global (sans unité, exprimé en pourcentage)} \\ Z_{F4} : \text{activité totale de la fraction F4 en U} \\ Z_{F1} : \text{activité totale de la fraction F1 en U} \end{array}$$

$$E = \frac{Z_{sp F4}}{Z_{sp F1}} \quad \text{Avec} \quad \begin{array}{l} E : \text{enrichissement global (sans unité)} \\ Z_{sp F4} : \text{activité spécifique de la fraction F4 en U.g}^{-1} \\ Z_{sp F1} : \text{activité spécifique de la fraction F1 en U.g}^{-1} \end{array}$$

3.5.

	Activité spécifique Zsp U/g	Rendement %	Enrichissement
F1	9,96		
F4	211	45	21

3.6.

Le taux de purification est significativement supérieur à 1, ce qui signifie que la purification est effective. Le rendement lui, indique que l'on n'a récupéré que 45% des protéines d'intérêt initialement présentes (perte de plus de 50% du matériel initial, ce qui est important mais assez classique pour une purification multi-étapes).

4.

4.1.

Un inhibiteur efficace est un inhibiteur pour lequel l'équilibre $E + I = EI$ est en faveur de la formation du complexe EI. Ainsi, à l'équilibre, $[EI]$ est élevée alors que $[E]$ et $[I]$ sont faibles, ce qui correspond à un K_i faible.

4.2.

L'inhibiteur le plus efficace est un inhibiteur de forte affinité pour l'enzyme (K_i faible) et dont l'effet inhibiteur est observable pour de faibles concentrations (IC_{50} faible), ce qui permet une toxicité moindre. Le choix se tourne donc vers les dérivés d'acides phosphoniques.

4.3.

Le 7-amino-6-benzosubérone entre en interaction avec le Zn^{2+} et le Glu-264 au niveau du site actif, tout comme le substrat naturel. Il est donc fort probable que cette molécule exerce une inhibition compétitive.

4.4.

$V_{i\max}$: Vitesse initiale de l'enzyme à saturation

K_M : concentration en substrat lorsque $V_i = V_{i\max} / 2$ (demi-saturation)

En présence d'un inhibiteur compétitif, $V_{i\max}$ est inchangée (levée d'inhibition à forte concentration en substrat) et K_M est augmenté (affinité de l'enzyme vis à vis de son substrat diminuée).

U41 : Microbiologie et génie fermentaire

1.

1.1.

1.1.1.

Le parasitisme peut se définir comme une interaction obligatoire entre deux êtres vivants dont l'un, le parasite, tire un bénéfice aux dépens du second (l'hôte).

La symbiose (vraie) peut se définir comme une interaction obligatoire entre deux êtres vivants pour laquelle, les deux êtres vivants tirent un bénéfice réciproque.

Le commensalisme peut se définir comme une interaction non obligatoire entre deux êtres vivants pour laquelle un des deux partenaires retire un avantage (niche écologique, apport de nutriment) par occupation d'une niche écologique de l'hôte sans perturber l'hôte.

1.1.2.

Protection contre des agents antibactériens, protection contre la déshydratation, coopération cellulaire intra et inter-espèces, capacité d'invasion...

1.1.3.

Les différentes couches de polymères extracellulaires peuvent être : le slime, la capsule, la couche protéique ou d'autres polysaccharides comme le xanthane...

1.2.

1.2.1.

Une bactérie diazotrophe est une bactérie qui fixe le diazote atmosphérique minéral gazeux (N_2) pour intégration dans la matière organique. C'est l'assimilation de l'azote.

1.2.2.

C'est la nitrogénase. Il s'agit d'une réaction d'oxydo-réduction où le diazote atmosphérique est réduit en azote organique. C'est une réaction très endergonique qui nécessite l'apport de pouvoir réducteur ($NADH+H^+$) et d'énergie sous la forme d'ATP.

2.

2.1.

2.1.1.

Type trophiques : *Pseudomonas syringae* cultive sur le milieu de Koser qui est un milieu organique et synthétique où la seule source de carbone est le citrate. *Pseudomonas* est donc une souche a priori chimio-organotrophe : la source d'énergie est chimique et la source d'électron est organique, c'est le citrate. De même, *Pseudomonas* est hétérotrophe car la source de carbone est le citrate et non le dioxyde de carbone atmosphérique.

Exigences : *Pseudomonas* cultive sur le milieu de Koser qui ne contient aucune vitamine ou facteur de croissance : c'est donc une bactérie auxotrophe sans exigence particulière.

Conditions de culture : bactérie qui cultive à une température de 20 – 25 °C, elle est mésophile. Elle est aérobie, il y a un système de bullage d'air qui sert à amener le dioxygène pour faciliter la croissance. Le milieu est très légèrement acide (pH = 6,7), elle cultive à pH neutre.

2.1.2.

Le mode de stérilisation de l'air entrant est la filtration par le coton qui empêche la pénétration des micro-organismes.

2.1.3.

Le procédé de culture utilisé est une culture discontinue en milieu non renouvelé ; le milieu est en Erlenmeyer et il n'est pas évoqué d'alimentation ou de soutirage du milieu de culture.

2.2.

2.2.1.

Noter que le graphique est une représentation semi-logarithmique avec l'ordonnée du graphique en représentation logarithmique et l'abscisse en représentation normale.

• Déterminer les différentes phases de la croissance :

- de 0 à 5 heures ; phase de latence
- de 5 à 24 heures ; première phase exponentielle de croissance, tous les points sont alignés.
- de 24 à 54 heures ; seconde phase exponentielle de croissance mais dont la pente est inférieure.

• Proposer une hypothèse expliquant l'évolution de la culture à partir de 24 heures :

- *Pseudomonas* se met à produire la protéine de nucléation ce qui conduit à un ralentissement de la croissance par diminution du taux de conversion substrat/biomasse.

• Concentration bactérienne minimale permettant T50 de -10 °C :

- Lire la T50 = -10 °C pour le point 42 heures qui correspond à une concentration bactérienne comprise entre 10^8 et 10^9 (d'environ $8 \cdot 10^8$) UFC·mL⁻¹.

2.2.2.

Vitesse spécifique de croissance de la souche :

$$Q_{x\text{ expo}} = \frac{dX}{dt} \cdot \frac{1}{X} \text{ heure}^{-1} \quad \text{et} \quad Q_{x\text{ expo}} = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1} \text{ heure}^{-1}$$

En phase exponentielle :

$t_1 = 12$ heures ce qui correspond à environ 10^5 UFC·mL⁻¹

$t_2 = 24$ heures ce qui correspond à environ 10^7 UFC·mL⁻¹

vitesse spécifique de croissance :

$$Q_{x \text{ expo}} = \frac{\ln(10^7) - \ln(10^5)}{24 - 12}$$

$$Q_{x \text{ expo}} = \frac{16,1 - 11,5}{12}$$

$$Q_{x \text{ expo}} = \frac{4,6}{12}$$

$$Q_{x \text{ expo}} = 0,38 \text{ h}^{-1}$$

temps de génération de la souche

$$G = \frac{\ln(2)}{Q_{x \text{ expo}}}$$

$$G = \frac{0,693}{0,383}$$

$$G = 1,8 \text{ heure}$$

La lecture directe du graphique permet de vérifier que c'est bien l'ordre de grandeur.

2.3.

2.3.1.

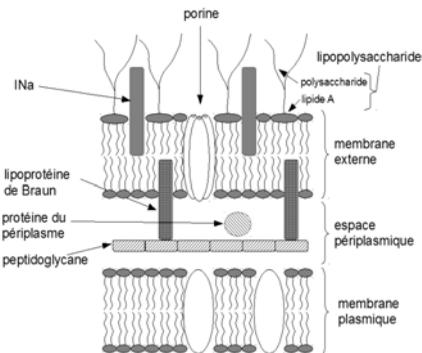
La conjugaison est un transfert horizontal d'une information génétique portée par un plasmide dit conjugatif présent dans une bactérie dite F+ (mâle).

La conjugaison correspond au transfert d'une copie de ce plasmide dans une bactérie dite F- (femelle) ne possédant pas ce plasmide (unidirectionnelle).

Elle se fait par contact étroit (*pili* sexuels chez les bactéries didermes ou direct chez les monodermes).

2.3.2.

Il est demandé de positionner la protéine INa, donc de représenter l'enveloppe des *Pseudomonas* impliqués dans la conjugaison.



3.

3.1.

3.1.1.

	procédés continus en milieu renouvelé	procédés discontinus en milieu alimenté
volume de culture	constant	augmente
alimentation en substrat	présence	présence
soutirage de culture	présence	absence
concentration en biomasse	régulée et constante si D est constant	augmentation ou diminution* pour une phase de production de métabolites secondaires sans croissance
concentration en produit	Constante et régulée	Augmentation

* : absence de croissance, la biomasse est constante, mais le volume augmente.

3.1.2.

Le xanthane étant une substance extracellulaire visqueuse, son accumulation peut gêner la production. Le soutirage régulier va permettre d'éviter une trop grande accumulation du produit.

3.1.3.

$$D = \frac{\text{débit du milieu (entrant ou sortant)} (L \cdot h^{-1})}{\text{volume utile du fermenteur} (L)} \quad (h^{-1})$$

3.1.4.

Le taux de dilution D représente la fraction de volume du milieu renouvelé par heure, c'est à dire le nombre de changement de volume de milieu par heure.

Si le taux de dilution est trop important, lors du soutirage, on enlève davantage de biomasse que le bioréacteur n'en produit par heure et la biomasse diminue.

Si le taux de dilution n'est pas assez important, il y a plus de biomasse de produite par heure que ce qui est enlevé lors du soutirage et la biomasse augmente dans le réacteur.

3.1.5. Calcul des rendements de conversion

$$\text{Rendement de conversion} = \frac{m_{\text{xanthane produit}}}{m_{\text{glucose consommé}}} \frac{(g. \text{ de xanthane})}{(g. \text{ de glucose})}$$

Pour un même volume de bioréacteur, cela revient au rapport des vitesses spécifiques de production et de consommation.

$$\text{Rendement de conversion} = \frac{\text{vitesse spécifique de production de xanthane} (h^{-1} \text{ de xanthane})}{\text{vitesse spécifique de consommation de glucose} (h^{-1} \text{ de glucose})}$$

Pour $D = 0,1 \text{ h}^{-1}$	vitesse spécifique de production de xanthane (h^{-1})	vitesse spécifique de consommation de glucose (h^{-1})	Rendement $\frac{(\text{g. de xanthane})}{(\text{g. de glucose})}$
culture continue	$\sim 0,5$	$\sim 1,5$	$\frac{0,5}{1,5} \sim 0,33$ soit environ 33 %
culture discontinue alimentée	$\sim 0,65$	$\sim 0,8$	$\frac{0,65}{0,80} \sim 0,81$ soit environ 81 %

Différence de rendement entre les deux cultures : le procédé en culture discontinue alimentée a un rendement d'environ 81 % qui est nettement supérieur au rendement d'environ 33 % de la culture continue. Le procédé discontinu alimenté (*fed-batch*) est donc à privilégier par rapport à la culture continue pour ce paramètre.

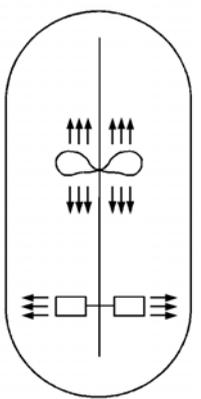
3.1.6.

Pour le procédé discontinu alimenté et quand D est supérieur à $0,1 \text{ h}^{-1}$, on constate une diminution des 2 vitesses spécifiques de croissances, mais d'un même facteur.

Cela représente une dilution de la biomasse du bioréacteur, D est supérieur à la vitesse spécifique de croissance $D > Q_x$. Lors du soutirage, on enlève plus de biomasse qu'il ne s'en forme. La consommation et la production vont donc diminuer d'un même rapport.

3.2.

3.2.1.

	<p>Un bioréacteur pour la production de xanthane est prévu avec une hélice supérieure de type marine et une turbine inférieure de type Rushton montées sur un axe d'agitation pour assurer la rotation des pales.</p> <p>Les pales droites inférieures de types Rushton assurent un mouvement d'écoulement radial du milieu (perpendiculaire à l'axe de rotation) avec un fort cisaillement alors que les pales de type hélice marine assure un écoulement du milieu de type axial (parallèle à l'axe de rotation).</p> <p>Par leur force de cisaillement, les pales inférieures peuvent assurer une bonne homogénéisation des gaz ainsi qu'une bonne « dispersion » du xanthane et les hélices marines une meilleure homogénéisation des milieux visqueux comme ceux contenant du xanthane dans l'ensemble du bioréacteur.</p>
---	---

3.2.2.

Les cellules sont immobilisées et il y a un recyclage du milieu. C'est un produit d'intérêt produit

par les cellules qui est récupéré après filtration tangentielle.

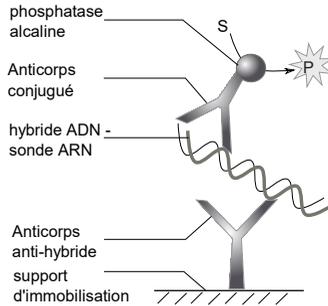
1. Alimentation en milieu (fiole de réserve avec agitation)
2. Enceinte du bioréacteur (cellules immobilisées)
3. Arrivée d'air (oxygénation du bioréacteur)
4. Sortie du produit d'intérêt (filtrat avec produit d'intérêt)
5. Recircularisation du milieu sans le produit d'intérêt (rétentat)
6. Entrée du système de régulation de température (eau pour le système de thermorégulation)
7. Double enveloppe pour circulation du système de régulation de température
8. Sortie des gaz (air)

U42 : Biologie cellulaire

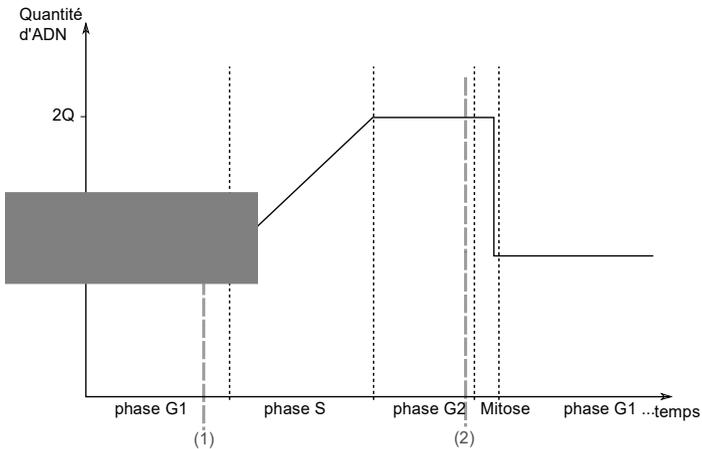
Durée : 2 h – coefficient 1

1.

1.1.



1.2. Variation de la quantité d'ADN par cellule au cours du cycle cellulaire :



Attention : on parle bien de quantité d'ADN (Q_{ADN}) et non de nombre de chromosomes !

1.3.

Les deux principaux points de contrôle du cycle sont le point de restriction en fin de phase G1 (1) et le point d'entrée en mitose (2). (voir graphique au 1.2.)

1.4.

Le document présente, d'une part, l'inhibition par indirecte par P53 de complexes cycline / CDK, ce qui contribue à freiner le cycle cellulaire. D'autre part, le document montre également la

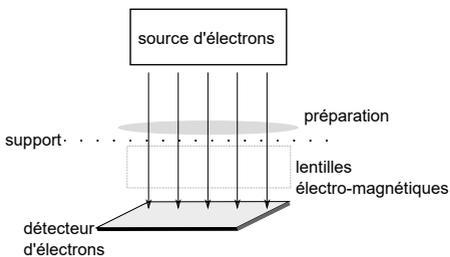
participation de P53 à l'activation de caspases, enzymes effectrices de l'apoptose. P53 a donc un effet de frein à la prolifération, et un effet de stimulation de l'apoptose – deux effets anti-oncogènes.

1.5.

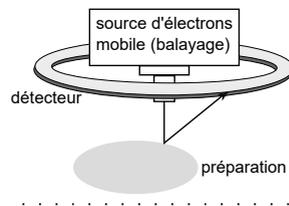
La fixation de la protéine virale sur P53 provoque sa dégradation donc ses deux effets sont levés : il manque donc un frein à la prolifération cellulaire, ainsi qu'un mécanisme induisant l'apoptose en cas d'anomalie cellulaire.

2.

2.1.



Microscope électronique à transmission : les électrons passent au travers de la préparation.



Microscope électronique à balayage : les électrons sont réfléchis par la préparation, donnant une image de sa surface.

2.2.

L'image A, en microscopie électronique à balayage, permet de visualiser la forme tridimensionnelle des polyèdres et d'évaluer leur taille, de l'ordre d'1 μm . L'image B, une coupe de polyèdre en microscopie électronique à transmission, permet d'observer les structures se trouvant à l'intérieur des polyèdres : on y voit plusieurs amas de virions cylindriques. Chaque virion mesure environ 200 nm de long pour 10-20 nm de large.

2.3.

Les polyèdres sont des structures plus grandes que les virions et leur diamètre est de l'ordre du μm , soit bien plus que la limite de résolution (ou pouvoir séparateur) des microscopes optiques. Ils pourront donc être observés.

2.4.

Le rouge neutre permet de colorer le cytoplasme des cellules : c'est un colorant dit « vital », c'est-à-dire qui ne perturbe pas (ou peu) la viabilité cellulaire. Les cellules mortes perdent leur étanchéité donc leur coloration, les plages blanches correspondent donc à des zones de mort cellulaire – ici des plages de lyse dues à l'action du virus.

2.5.

Chaque plage de lyse provient de l'infection initiale d'une cellule par un virion, recombinant ou

non. Pour les distinguer, on observe le contenu des plages : le virus sauvage possède les gènes permettant la synthèse de polyèdres, il se trouve donc dans les plages contenant des polyèdres visibles. Au contraire, le virus recombinant ne possède plus le gène de la polyédrine : les virions recombinants libérés se trouvent donc dans les plages blanches sans polyèdres.

2.6.

La trypsine est une protéase utilisée pour dégrader les protéines responsables de l'adhérence des cellules. L'EDTA chélate le calcium, cation qui participe à la fonction de certaines protéines d'adhérence.

Les cellules observées sont arrondies, réfringentes, et présentent l'aspect général de cellules non adhérentes. On peut en déduire qu'elles ne sont pas fixées au fond de la flasque par des protéines d'adhérence, l'utilisation de Trypsine et d'EDTA pour le repiquage est donc inutile.

2.7.

Nature des constituants	Exemple	Rôle
Acides aminés	L-Alanine, L-Arginine, Synthèse protéique	
Substrats carbonés :	...	Sources de carbone et d'énergie
- acides organiques	Pyruvate, succinate...	- Substrats pour le cycle de Krebs et la respiration
- glucides	sucrose, glucose	- Substrats pour la glycolyse
Sels minéraux	NaCl, NaH ₂ PO ₄ , KCl,...	Maintien de la pression osmotique, des échanges ioniques cellulaires, pouvoir tampon (limité).
Vitamines	Acide ascorbique, biotine, choline...	Maintien du potentiel redox, précurseurs de cofacteurs enzymatiques...

2.8.

Un cytotacteur est un bioréacteur spécialisé dans la culture de cellules animales. Il s'agit d'une cuve fermée, aseptique, dans laquelle le milieu est agité et oxygéné. Les paramètres pouvant être contrôlés sont le pH, la température, la pression partielle en dioxygène, ...

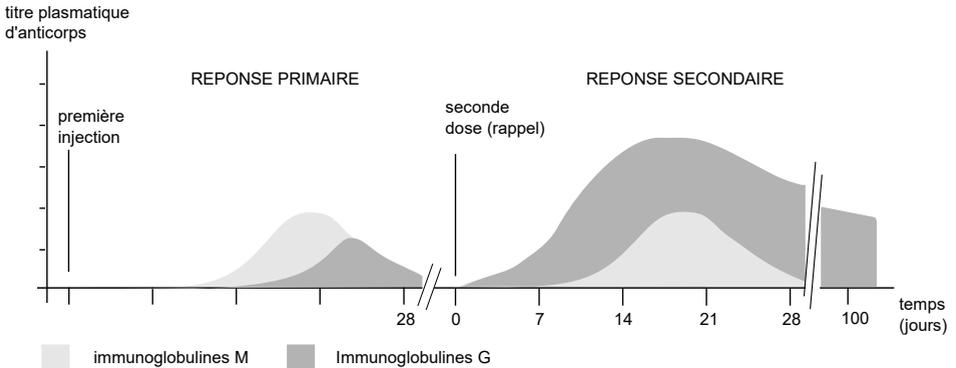
3.

3.1.

Le vaccin est composé de :

- protéines L1 de HPV16 et de HPV18 : protéines antigéniques et immunogènes permettant de déclencher une réponse immunitaire adaptative contre les deux virus
- adjuvant : il s'agit d'un composé permettant de stimuler le système immunitaire plus efficacement, en augmentant le caractère immunogène du vaccin (par exemple par un effet de dépôt, en maintenant la concentration locale en antigène à un niveau élevé).
- chlorure de sodium à 9 g.L⁻¹ dans de l'eau désionisée stérile : il s'agit d'eau physiologique, c'est-à-dire d'un diluant isotonique qui évite de perturber l'équilibre osmotique lors de l'injection.

3.2.



3.3.

Le vaccin A permet la protection simultanée contre deux souches du virus, qui sont à elle deux responsables de 70 % des cancers utérins. De plus, le document 8 montre que le titre d'anticorps neutralisant est, pour chacun des virus, 4 fois supérieur au taux obtenus grâce aux vaccins monovalents. Ce vaccin présente donc des avantages d'efficacité et d'étendue de la protection, il y a donc un fort intérêt à le commercialiser.

(N.B. : la mise sur le marché d'un produit pharmaceutique est soumise à une procédure longue et complexe, l'AMM, et nécessite de prouver une amélioration par rapport aux préparations déjà existantes : c'est l'amélioration de service médical rendu ou ASMR.)

3.4.

Les cellules infectées présentent à leur surface, sur les glycoprotéines du CMH de classe I, des déterminants antigéniques viraux qui permettent leur reconnaissance par des lymphocytes Tc spécifiques. Une fois cette reconnaissance effectuée, le lymphocyte Tc utilise plusieurs stratégies aboutissant à la mort de la cellule :

- sécrétion de perforine, qui crée des pores dans la membrane de la cellule cible, et de granzyme B qui pénètre alors dans la cellule. Le granzyme B est un activateur d'apoptose qui déclenche la mort cellulaire par protéolyse limitée des caspases.
- Sécrétion de « signaux de mort » comme l'interféron γ ou le TNF β qui agissent sur des récepteurs membranaires de la cellule-cible et déclenchent l'apoptose.
- Présentation d'une protéine membranaire appelée « Fas-ligand », qui interagit avec une protéine membranaire de la cellule cible appelée « Fas-récepteur », ce qui provoque son assemblage en trimères et l'activation de son domaine catalytique intracellulaire. Ce mécanisme initie la voie alterne de déclenchement de l'apoptose dans la cellule cible.

Travaux pratiques de biotechnologies

U51 : TP de biologie moléculaire et génie génétique

Coefficient 1 - CCF

Compétences évaluables

compétences terminales Globales	Compétences terminales élémentaires	
C1.1- Préparer les réactifs et les solutions travail	C1.1.1.	Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs
	C1.1.2.	Préparer des milieux de culture
	C1.1.3.	Etalonner les solutions titrantes
C1.2- Préparer ou prétraiter les échantillons biologiques	C1.2.1.	Préparer les échantillons biologiques
	C1.2.2.	Prétraiter les échantillons biologiques
	C1.2.3.	Conditionner le matériel biologique
C1.3- Mettre en œuvre des techniques en biochimie et biophysique		Techniques préparatives
	C 1.3.1	choisir un protocole adapté aux caractéristiques biochimiques et/ou biophysiques du lot ou de l'échantillon
	C 1.3.2.	appliquer sur le lot ou l'échantillon le protocole adapté
	C 1.3.3.	consERVER la préparation purifiée
		Techniques analytiques
	C 1.3.4	choisir un étalon ou un matériel de référence
	C 1.3.5	choisir un protocole adapté.
	C 1.3.6	appliquer sur l'échantillon et l'étalon, le protocole adapté
C 1.3.7	caractériser un échantillon	
C1.5- Mettre en œuvre des techniques utilisant des anticorps	C1.5.1	Choisir un protocole adapté.
	C1.5.2	Prévoir des témoins et des échantillons de référence
	C1.5.3	Appliquer sur les échantillons et les témoins le protocole choisi
C1.6- Mettre en œuvre des techniques en biologie moléculaire et génie génétique	C1.6.1	Rechercher une séquence ou une donnée dans une banque
	C1.6.2	Analyser une séquence ou un ensemble de séquences
	C1.6.3	Préparer la mise en œuvre en fonction des caractéristiques et du nombre d'échantillons à traiter
	C1.6.4	Appliquer aux acides nucléiques les protocoles adaptés
	C1.6.5	Appliquer aux cellules procaryotes, eucaryotes, et aux virus les protocoles adaptés
	C1.6.6	Exploiter et valider les résultats
	C1.6.7	ConservEr et stocker le matériel biologique d'intérêt

C2.1- Organiser son activité de travail	C2.1.1	Recenser et planifier les travaux à réaliser
	C2.1.2	Inventorier les besoins en matériels et en réactifs
	C2.1.3	Vérifier la disponibilité des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.4	Garantir l'approvisionnement et le renouvellement des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.5	Organiser son espace de travail
	C2.1.6	Remettre en ordre son espace de travail
	C2.1.7	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires
C2-2- Préparer les équipements et les matériels	C2.2.1	Vérifier le bon état du matériel ou des installations
	C2.2.2	Réaliser le montage des appareils et de leurs accessoires
	C2.2.3	Vérifier la présence et le fonctionnement des équipements collectifs de sécurité
	C2.2.4	Vérifier la présence et l'état des protections individuelles de sécurité
	C2.2.5	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires
	C2.2.6	Vérifier ou étalonner les appareils de mesure
C 2.4 Gérer la santé et la sécurité au travail. Organiser le travail dans le temps et dans l'espace	C2.4.1	Identifier les dangers
	C2.4.2	Évaluer les risques et les facteurs potentiels d'accidents d'une manipulation
	C2.4.3	Déterminer les mesures de prévention et les équipements de protection adaptés
	C2.4.4	Vérifier l'adéquation du choix des équipements de protection aux risques identifiés
	C2.4.5	Déclencher les opérations adaptées en cas de dysfonctionnement pouvant créer une situation de risque pour les personnes, les matériels, les produits ou l'environnement
	C2.4.6	Intervenir de façon adaptée en cas d'accident ou d'incident
	C2.4.7	Pour toute personne entrante : vérifier son autorisation d'entrée, informer des risques spécifiques liés aux activités des laboratoires et locaux associés veiller à la mise à disposition des équipements de protection individuels et collectifs
	C2.4.8	Veiller à la mise en œuvre des procédures de sécurité préalables aux activités sous-traitées
C3-1- Analyser et exploiter des données ou des résultats	C3.1.1	Mettre en forme et traiter les données et les résultats bruts collectés lors d'une phase de travail technique
	C3.1.2	Analyser et exploiter des données techniques et/ou scientifiques dans le cadre d'une problématique définie
C4-3- Rendre compte et transmettre l'information	C4.3.1	Faire un rapport écrit ou oral sur le travail effectué

U52 : TP de biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

Coefficient 1 – CCF

Compétences évaluables

compétences terminales Globales	Compétences terminales élémentaires	
<u>C1.1- Préparer les réactifs et les solutions travail</u>	C1.1.1.	Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs
	C1.1.2.	Préparer des milieux de culture
	C1.1.3.	Etalonner les solutions titrantes
<u>C1.2- Préparer ou prétraiter les échantillons biologiques</u>	C1.2.1.	Préparer les échantillons biologiques
	C1.2.2.	Prétraiter les échantillons biologiques
	C1.2.3.	Conditionner le matériel biologique
<u>C1.3- Mettre en œuvre des techniques en biochimie et biophysique</u>	Techniques préparatives	
	C 1.3.1	choisir un protocole adapté aux caractéristiques biochimiques et/ou biophysiques du lot ou de l'échantillon
	C 1.3.2.	appliquer sur le lot ou l'échantillon le protocole adapté
	C 1.3.3.	conserver la préparation purifiée
	Techniques analytiques	
	C 1.3.4	choisir un étalon ou un matériel de référence
	C 1.3.5	choisir un protocole adapté.
C 1.3.6	appliquer sur l'échantillon et l'étalon, le protocole adapté	
C 1.3.7	caractériser un échantillon	
<u>C1.5- Mettre en œuvre des techniques utilisant des anticorps</u>	C1.5.1	Choisir un protocole adapté.
	C1.5.2	Prévoir des témoins et des échantillons de référence
	C1.5.3	Appliquer sur les échantillons et les témoins le protocole choisi
<u>C.1.8 - Mettre en œuvre des techniques en génie enzymatique</u>	C1.8.1	Réaliser et évaluer les étapes d'une purification d'enzyme
	C1.8.2	Réaliser une immobilisation d'enzyme
	C1.8.3	Evaluer les performances d'une immobilisation et les caractéristiques d'une enzyme immobilisée
	C1.8.4	Utiliser un biocapteur
	C1.8.5	Mettre en oeuvre une biocatalyse en réacteur
<u>C2.1- Organiser son activité de travail</u>	C2.1.1	Recenser et planifier les travaux à réaliser
	C2.1.2	Inventorier les besoins en matériels et en réactifs
	C2.1.3	Vérifier la disponibilité des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.4	Garantir l'approvisionnement et le renouvellement des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.5	Organiser son espace de travail
	C2.1.6	Remettre en ordre son espace de travail
	C2.1.7	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires

C2-2- Préparer les équipements et les matériels	C2.2.1	Vérifier le bon état du matériel ou des installations
	C2.2.2	Réaliser le montage des appareils et de leurs accessoires
	C2.2.3	Vérifier la présence et le fonctionnement des équipements collectifs de sécurité
	C2.2.4	Vérifier la présence et l'état des protections individuelles de sécurité
	C2.2.5	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires
	C2.2.6	Vérifier ou étalonner les appareils de mesure
C 2.4 Gérer la santé et la sécurité au travail. Organiser le travail dans le temps et dans l'espace	C2.4.1	Identifier les dangers
	C2.4.2	Évaluer les risques et les facteurs potentiels d'accidents d'une manipulation
	C2.4.3	Déterminer les mesures de prévention et les équipements de protection adaptés
	C2.4.4	Vérifier l'adéquation du choix des équipements de protection aux risques identifiés
	C2.4.5	Déclencher les opérations adaptées en cas de dysfonctionnement pouvant créer une situation de risque pour les personnes, les matériels, les produits ou l'environnement
	C2.4.6	Intervenir de façon adaptée en cas d'accident ou d'incident
	C2.4.7	Pour toute personne entrante : vérifier son autorisation d'entrée, informer des risques spécifiques liés aux activités des laboratoires et locaux associés veiller à la mise à disposition des équipements de protection individuels et collectifs
	C2.4.8	Veiller à la mise en œuvre des procédures de sécurité préalables aux activités sous-traitées
C3-1- Analyser et exploiter des données ou des résultats	C3.1.1	Mettre en forme et traiter les données et les résultats bruts collectés lors d'une phase de travail technique
	C3.1.2	Analyser et exploiter des données techniques et/ou scientifiques dans le cadre d'une problématique définie
C4-3- Rendre compte et transmettre l'information	C4.3.1	Faire un rapport écrit ou oral sur le travail effectué

U53 : TP de microbiologie – génie fermentaire

Coefficient 1 – CCF

Compétences évaluables

compétences terminales Globales	Compétences terminales élémentaires	
C1.1- Préparer les réactifs et les solutions travail	C1.1.1.	Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs
	C1.1.2.	Préparer des milieux de culture
	C1.1.3.	Etalonner les solutions titrantes
C1.2- Préparer ou prétraiter les échantillons biologiques	C1.2.1.	Préparer les échantillons biologiques
	C1.2.2.	Prétraiter les échantillons biologiques
	C1.2.3.	Conditionner le matériel biologique
<u>C1.4- Mettre en œuvre des techniques en microbiologie</u>	C1.4.1	Mettre en œuvre un examen microscopique
	C1.4.2	Cultiver des agents biologiques
	C1.4.3	Identifier par méthodes biochimiques, immunologiques, moléculaires
	C1.4.4	Mettre en œuvre un typage de souche
	C1.4.5	Dénombrer les agents biologiques
	C1.4.6	Conservier et stocker les agents biologiques
C1.5- Mettre en œuvre des techniques utilisant des anticorps	C1.5.1	Choisir un protocole adapté.
	C1.5.2	Prévoir des témoins et des échantillons de référence
	C1.5.3	Appliquer sur les échantillons et les témoins le protocole choisi
<u>C1.7- Mettre en œuvre des techniques en génie fermentaire</u>	C1.7.1	Préparer et organiser une unité de fermentation (2 à 10 litres)
	C1.7.2	Préparer et stériliser les différents milieux, réactifs, solutions et matériels
	C1.7.3	Réaliser la préculture et ensemencer le milieu de fermentation
	C1.7.4	Conduire la fermentation
	C1.7.5	Traiter des données cinétiques
	C1.7.6	Effectuer le traitement primaire du moût en fin de fermentation : séparation de la biomasse
	C1.7.7	Conservier et stocker le matériel collecté
	C1.7.8	Assurer l'élimination des cultures et des consommables
	C1.7.9	Décontaminer et nettoyer l'unité de fermentation et les périphériques
C2.1- Organiser son activité de travail	C2.1.1	Recenser et planifier les travaux à réaliser
	C2.1.2	Inventorier les besoins en matériels et en réactifs
	C2.1.3	Vérifier la disponibilité des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.4	Garantir l'approvisionnement et le renouvellement des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.5	Organiser son espace de travail
	C2.1.6	Remettre en ordre son espace de travail
	C2.1.7	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires

C 2.4 Gérer la santé et la sécurité au travail. Organiser le travail dans le temps et dans l'espace	C2.4.1	Identifier les dangers
	C2.4.2	Évaluer les risques et les facteurs potentiels d'accidents d'une manipulation
	C2.4.3	Déterminer les mesures de prévention et les équipements de protection adaptés
	C2.4.4	Vérifier l'adéquation du choix des équipements de protection aux risques identifiés
	C2.4.5	Déclencher les opérations adaptées en cas de dysfonctionnement pouvant créer une situation de risque pour les personnes, les matériels, les produits ou l'environnement
	C2.4.6	Intervenir de façon adaptée en cas d'accident ou d'incident
	C2.4.7	Pour toute personne entrante : vérifier son autorisation d'entrée, informer des risques spécifiques liés aux activités des laboratoires et locaux associés veiller à la mise à disposition des équipements de protection individuels et collectifs
	C2.4.8	Veiller à la mise en œuvre des procédures de sécurité préalables aux activités sous-traitées
C3-1- Analyser et exploiter des données ou des résultats	C3.1.1	Mettre en forme et traiter les données et les résultats bruts collectés lors d'une phase de travail technique
	C3.1.2	Analyser et exploiter des données techniques et/ou scientifiques dans le cadre d'une problématique définie
C4-3- Rendre compte et transmettre l'information	C4.3.1	Faire un rapport écrit ou oral sur le travail effectué

U54 : TP de biologie et technologies cellulaires

Coefficient 1 – CCF

Compétences évaluables

compétences terminales Globales	Compétences terminales élémentaires	
C1.1- Préparer les réactifs et les solutions travail	C1.1.1.	Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs
	C1.1.2.	Préparer des milieux de culture
	C1.1.3.	Etalonner les solutions titrantes
<u>C1.2- Préparer ou prétraiter les échantillons biologiques</u>	C1.2.1.	Préparer les échantillons biologiques
	C1.2.2.	Prétraiter les échantillons biologiques
	C1.2.3.	Conditionner le matériel biologique
C1.5- Mettre en œuvre des techniques utilisant des anticorps	C1.5.1	Choisir un protocole adapté.
	C1.5.2	Prévoir des témoins et des échantillons de référence
	C1.5.3	Appliquer sur les échantillons et les témoins le protocole choisi
<u>C1.9- Mettre en œuvre des techniques de génie cellulaire</u>	C1.9.1	Préparer les milieux de culture
	C1.9.2	Préparer une culture primaire de cellules eucaryotes supérieures
	C1.9.3	Entretenir une culture de cellules eucaryotes supérieures
	C1.9.4	Utiliser des cellules eucaryotes supérieures comme support d'expérimentation ou de production
	C1.9.5	Consserver et stocker des lignées cellulaires et les clones
	C1.9.6	Assurer l'élimination des cultures et du matériel contaminés
C2.1- Organiser son activité de travail	C2.1.1	Recenser et planifier les travaux à réaliser
	C2.1.2	Inventorier les besoins en matériels et en réactifs
	C2.1.3	Vérifier la disponibilité des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.4	Garantir l'approvisionnement et le renouvellement des matériels, des réactifs et des consommables
	C2.1.5	Organiser son espace de travail
	C2.1.6	Remettre en ordre son espace de travail
	C2.1.7	Mettre en route les matériels et les équipements et faire les réglages nécessaires

C 2.4 Gérer la santé et la sécurité au travail. Organiser le travail dans le temps et dans l'espace	C2.4.1	Identifier les dangers
	C2.4.2	Évaluer les risques et les facteurs potentiels d'accidents d'une manipulation
	C2.4.3	Déterminer les mesures de prévention et les équipements de protection adaptés
	C2.4.4	Vérifier l'adéquation du choix des équipements de protection aux risques identifiés
	C2.4.5	Déclencher les opérations adaptées en cas de dysfonctionnement pouvant créer une situation de risque pour les personnes, les matériels, les produits ou l'environnement
	C2.4.6	Intervenir de façon adaptée en cas d'accident ou d'incident
	C2.4.7	Pour toute personne entrante : vérifier son autorisation d'entrée, informer des risques spécifiques liés aux activités des laboratoires et locaux associés veiller à la mise à disposition des équipements de protection individuels et collectifs
	C2.4.8	Veiller à la mise en œuvre des procédures de sécurité préalables aux activités sous-traitées
C3-1- Analyser et exploiter des données ou des résultats	C3.1.1	Mettre en forme et traiter les données et les résultats bruts collectés lors d'une phase de travail technique
	C3.1.2	Analyser et exploiter des données techniques et/ou scientifiques dans le cadre d'une problématique définie
C4-3- Rendre compte et transmettre l'information	C4.3.1	Faire un rapport écrit ou oral sur le travail effectué

U6 : Rapport de stage et soutenance

Extraits du référentiel :

1. Objectifs et modalités des stages

Les stages en entreprise doivent permettre :

- d'apprendre à travailler en situation réelle,
- de s'insérer dans une équipe de professionnels et de percevoir l'importance des facteurs humains et des relations sociales au sein de l'entreprise,
- d'acquérir ou d'approfondir ou d'appliquer des méthodologies ou des techniques inscrites au référentiel de certification,
- de conduire une réflexion critique sur les résultats obtenus

La durée totale des stages sera de 15 semaines soit 5 à 6 semaines en 1^{ère} année et 9 à 10 semaines en 2^{ème} année.

2. Choix du terrain de stage

Le terrain de stage doit être obligatoirement en adéquation avec les objectifs de la formation professionnelle du BTS Biotechnologies. Il est également impératif que les activités principales du stagiaire comportent la mise en oeuvre de techniques en relation avec les travaux de l'équipe d'accueil. S'agissant d'entreprises de production, des regroupements ponctuels organisés en partenariat avec les entreprises de Biotechnologie seront l'occasion d'une première approche de la démarche – qualité (référentiels et normes).

Bien que pouvant être conseillé par l'équipe pédagogique, le candidat doit rester responsable du choix de son terrain de stage.

3. Rédaction des rapports de stage :

Hors figures, bibliographie, index , lexiques et annexes diverses, le corps de chacun des rapports (1^{ère} ou 2^{ème} année) ne devra pas dépasser 20 pages dactylographiées, en format A4, police de type Times 11 ou 12, marges de 2 cm et texte justifié, interligne simple.

Le volume des annexes ne devra pas excéder 10 pages. Les illustrations seront disposées en regard des textes.

Le rapport comportera, en quatrième de couverture, un résumé en anglais de 20 lignes. Tout en bénéficiant de conseils de la part des enseignants ou du maître de stage, la rédaction du rapport doit rester un travail personnel et original du candidat.

4. Contenu de l'épreuve :

L'épreuve de soutenance doit permettre d'évaluer les qualités d'expression, de communication et de réflexion des candidats ainsi que la maîtrise des connaissances scientifiques et techniques correspondant au sujet traité.

L'exposé oral ne doit pas excéder 20 minutes. Il comportera la présentation en anglais du résumé du rapport de stage.

Cet exposé sera suivi d'un questionnement qui doit permettre d'apprécier les capacités du candidat à répondre de façon argumentée à des questions techniques sur le sujet choisi. L'étudiant sera en outre interrogé sur ses prestations écrites et orales en anglais. La durée totale du questionnement n'excédera pas 30 minutes.

5. Évaluation :

L'évaluation portera sur les points suivants :

- Les contenus scientifiques et techniques (évalués dans le rapport et lors de la soutenance) :
- adéquation du thème du stage aux objectifs de formation,
- cohérence du plan,
- place du travail réalisé dans le projet ou la thématique du laboratoire,
- présentation claire et correcte des techniques,
- pertinence et qualité de la réflexion sur l'analyse critique des résultats et leur exploitation ,
- prolongements possibles et mise en perspective.
- Le travail rédactionnel (évalué dans le rapport) : présentation matérielle du rapport de stage, qualité des illustrations, expression française (orthographe, syntaxe...), pertinence et qualité des documents présentés lors de la soutenance ;
- La communication (évaluée lors de la soutenance) : présentation pertinente du rapport, expression orale, respect du temps imparti, aptitude au dialogue.
 - L'expression en langue anglaise.

Le jury sera obligatoirement composé d'un professeur de biochimie-génie biologique, d'un professionnel (qui n'est pas le tuteur du candidat) d'un professeur de Français et d'un professeur d'anglais.

Le maître de stage peut assister à la soutenance en qualité d'observateur. En aucun cas, il ne participera à l'évaluation de l'épreuve.

PUBLICATIONS DE L'UPBM

L'UPBM édite d'autres annales et documents pédagogiques.

Certains ouvrages épuisés sont disponibles en consultation et en téléchargement sur le site Internet de l'UPBM: <http://www.upbm.org>

ANNALES BAC STL (Les annales de 1995 à 2011 sont accessibles sur le site UPBM).

Années 2013; 2014; 2015

ANNALES BTS Biotechnologies

Années 2005 - 2007, 2008 – 2010, 2011 – 2013

ANNALES BTS Bioanalyses et Contrôle

Années 2010 – 2011, 2012 – 2013; 2014-2015

ANNALES BTS Analyses de Biologie Médicale

Années 2012 – 2013, 2014-2015

ANNALES BTS QIAB

Années 2008 – 2009; 2010 – 2011; 2012 – 2013; 2014-2015

ANNALES BTS Diététique

Années 2000 - 2002; 2003 – 2006

CD-ROM: Hématologie, Microorganismes des boues d'épuration

PLANCHES D' HEMATOLOGIE

LE PRELEVEMENT SANGUIN

LE LABORATOIRE NSB2

Numéros de l'Opéron au détail.

|

Publications UPBM : UPBM ÉDILION Lycée la Martinière – Duchère
Avenue Andreï Sakharov – 69338 LYON Cedex 9

Site Internet UPBM : <http://www.upbm.org>
(catalogues, informations, archives, liens, bons de commande en ligne)

Et toujours, des liens sur les formations, des infos sur les filières, des ressources pour les professeurs...