

# BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL  
Spécialité biotechnologies

SESSION 2017

**CBSV : sous épreuve coefficient 4**  
**Biotechnologies : sous épreuve coefficient 4**

Durée totale de l'épreuve: 4 heures

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités  
sur des copies séparées.**

Dès que les sujets vous sont remis, assurez-vous qu'ils sont complets.

L'usage de la calculatrice est autorisé.

# **BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE**

**Série : Sciences et Technologies de Laboratoire**

**Spécialités : - Biotechnologies  
- Sciences physiques et chimiques en laboratoire**

**SESSION 2017**

## **Sous-épreuve écrite de Chimie – Biochimie – Sciences du vivant**

Coefficient de cette sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de spécialité seront traités  
sur des copies séparées.**

***L'usage de la calculatrice est autorisé.***

Ce sujet comporte **11** pages.

**Partie I : pages 2 à 5**

**Partie II : pages 6 à 11**

**Les 2 parties sont indépendantes.**

## **PARTIE I – Etude du virus de l'hépatite C (VHC) (8 points)**

L'hépatite C est une maladie du foie causée par le virus VHC. Ce virus peut entraîner une infection hépatique aiguë ou chronique, cette dernière pouvant évoluer vers une cirrhose ou un cancer du foie.

Le virus est transmis par le sang et les modes d'infection les plus fréquents résultent d'une mauvaise stérilisation du matériel médical ou de l'absence de dépistage avant transfusion sanguine.

À l'échelle mondiale, 130 à 150 millions d'individus sont porteurs chroniques de l'hépatite C.

Actuellement, il n'existe pas encore de vaccin contre l'hépatite C.  
(d'après source OMS)

**L'objet de cette première partie est d'étudier le virus de l'hépatite C et son cycle de multiplication.**

À l'aide des **documents A à D** et des connaissances, répondre aux questions suivantes :

### **Structure du virus de l'hépatite C**

- 1.1. Nommer sur la copie les quatre éléments du VHC présentés sur le **document B**.
- 1.2. Évaluer la taille approximative du virus de l'hépatite.  
Nommer la technique d'observation qui a permis d'obtenir cette photographie.  
Argumenter la réponse.

Le génome du VHC est constitué de ribonucléotides, tels que l'adénosine monophosphate ou AMP dont la formule est donnée dans le **document C**.

- 1.3. Reproduire sur la copie la formule de cette molécule.  
Repérer et nommer ces trois parties constitutives.
- 1.4. Repérer avec un astérisque (\*) un atome de carbone asymétrique.
- 1.5. Entourer et nommer un groupe caractéristique de la molécule.

Dans la cellule infectée, l'AMP, qui sera noté  $R_1\text{-CHOH-R}_2$ , peut se transformer en désoxyadénosine monophosphate ou dAMP, qui sera noté  $R_1\text{-CH}_2\text{-R}_2$ , dont la formule est donnée dans le **document C**.

- 1.6. Montrer que cette transformation chimique est une réduction.

1.7. Écrire l'équation de la réaction de réduction de l'AMP par le coenzyme NADH, H<sup>+</sup>.

Le potentiel redox standard biochimique du couple NAD<sup>+</sup> / NADH, H<sup>+</sup> est :  
 $E^{\circ}_{\text{NAD}^+ / \text{NADH, H}^+} = - 0,32\text{V}$ .

1.8. Sachant que la réduction de l'AMP n'est pas thermodynamiquement favorisée, comparer le potentiel redox standard biochimique du couple R<sub>1</sub>-CHOH-R<sub>2</sub> / R<sub>1</sub>-CH<sub>2</sub>-R<sub>2</sub> par rapport à celui du couple NAD<sup>+</sup> / NADH, H<sup>+</sup>.

1.9. Expliquer comment cette réaction peut se produire dans les cellules.

### Cycle de multiplication du virus de l'hépatite C

1.10. Le cycle de multiplication du VHC est présenté dans le **document D**. Ce cycle peut être décomposé en cinq étapes. Les écrire sur la copie en les classant dans l'ordre chronologique :

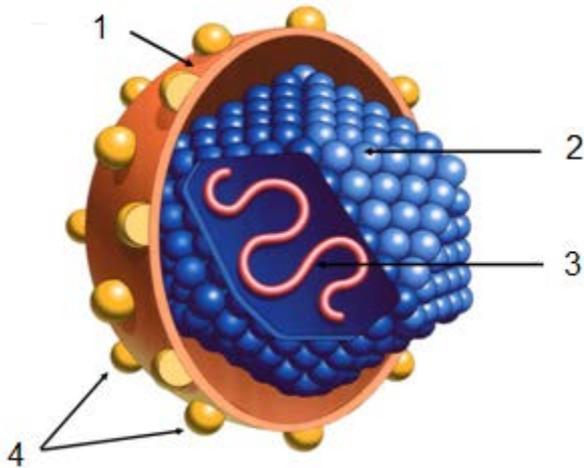
- assemblage des virions,
- décapsidation,
- endocytose,
- exocytose,
- réplication et traduction de l'ARN.

1.11. Expliquer, d'après l'analyse du cycle de multiplication, pourquoi le virus VHC est qualifié de « parasite intracellulaire obligatoire ».

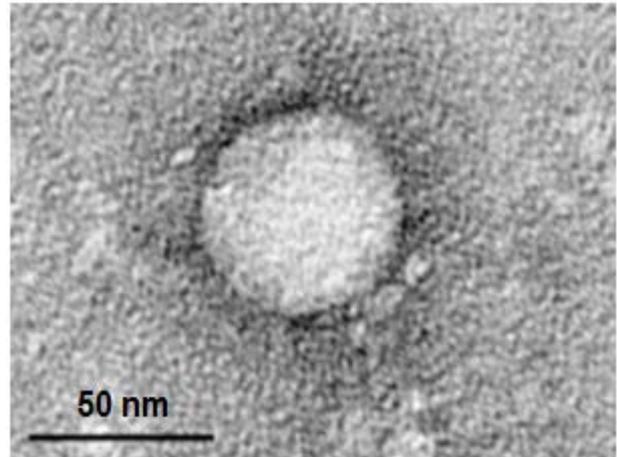
### Document A : présentation du virus de l'hépatite C (VHC)

Le virus de l'hépatite C a été découvert en 1989. Il fait partie de la famille des *Flaviviridae* (genre *Hepacivirus*). C'est un petit virus enveloppé, à ARN monocaténaire. Son enveloppe présente les glycoprotéines E1 et E2. Sa capside est icosaédrique. Son génome fait environ 96 000 ribonucléotides et a une grande capacité à muter. Ceci se traduit au niveau des populations par 6 génotypes majeurs et de nombreux sous-types.

### Document B : schéma et photographie du VHC

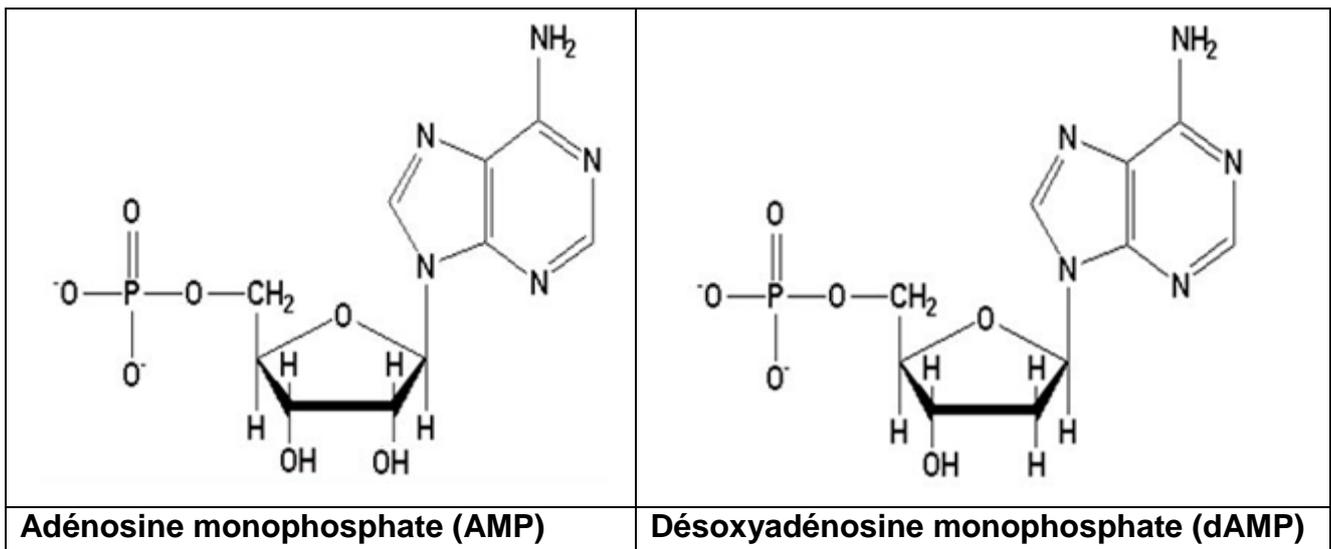


Source : [slideplayer.fr](http://slideplayer.fr)



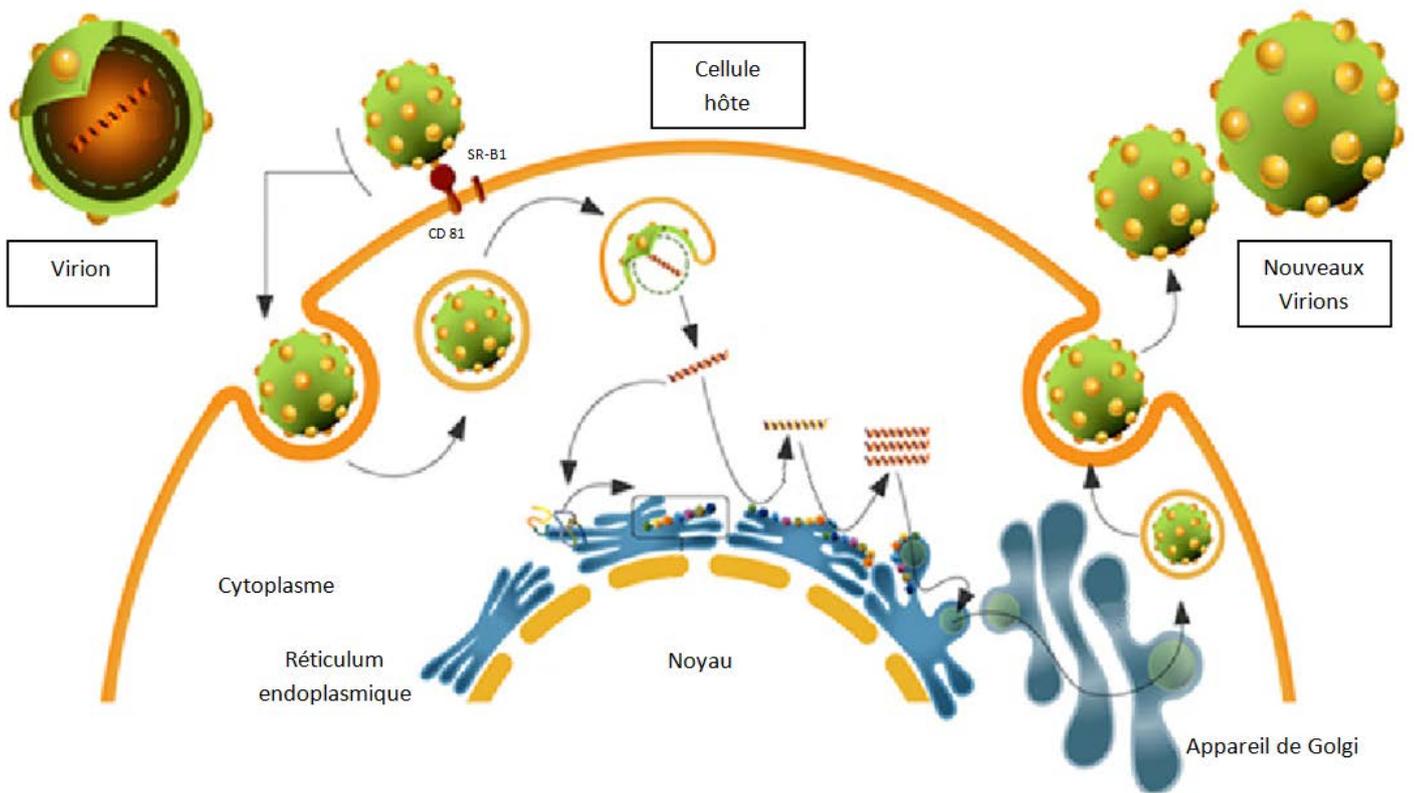
Source : <https://en.wikipedia.org>

### Document C : structure de deux nucléotides



# Document D : cycle de multiplication du virus de l'hépatite C

Source : d'après [epidemiologiamolecular.com](http://epidemiologiamolecular.com)



## **PARTIE II – Infection des cellules par le virus de l'hépatite C (12 points)**

Il a été démontré que l'infection des cellules par le virus de l'hépatite C (VHC) fait intervenir d'une part la glycoprotéine transmembranaire CD81 retrouvée à la surface de nombreuses cellules humaines et d'autre part la protéine d'enveloppe E2 du virus.

**Cette partie propose d'étudier l'interaction entre les protéines virales et les glycoprotéines membranaires des cellules cibles.**

### **Expression du gène de la glycoprotéine CD81**

Le gène de la glycoprotéine CD81 se trouve sur le bras court du chromosome 11. Les étapes de l'expression de ce gène sont représentées sur le **document E**.

2.1. Nommer sur la copie les deux étapes A et B.

Le début de la séquence codante du gène est donné dans le **document F**.

2.2. Déterminer la séquence de l'ARNm correspondante.  
Argumenter la réponse.

2.3. À l'aide du **document de référence**, déterminer la séquence de la chaîne polypeptidique obtenue.

Afin d'étudier le cycle viral de l'hépatite C, les chercheurs ont modifié le génome des cellules hépatiques (hépatocytes) en réalisant une mutation par délétion de nucléotides du gène de la glycoprotéine CD81.

2.4 Formuler une hypothèse sur une des conséquences possibles de cette mutation sur la structure et la fonction de la glycoprotéine CD81.

### **Infection d'hépatocytes en présence d'anticorps anti-CD81**

On a réalisé *in vitro* des expériences pour évaluer l'infection d'hépatocytes par le virus de l'hépatite C. Pour cela, des hépatocytes sont incubés en absence ou en présence d'anticorps spécifiques de la glycoprotéine CD81 (**document G**) puis mis en contact avec le VHC.

2.5. Indiquer l'intérêt de l'expérience en absence d'anticorps anti-CD81.

2.6. Exploiter les résultats des expériences et conclure sur l'action des anticorps anti-CD81.

2.7. En s'inspirant du **document H**, schématiser le résultat de l'expérience en présence des anticorps anti-CD81.

## **Infection d'autres types cellulaires que les hépatocytes**

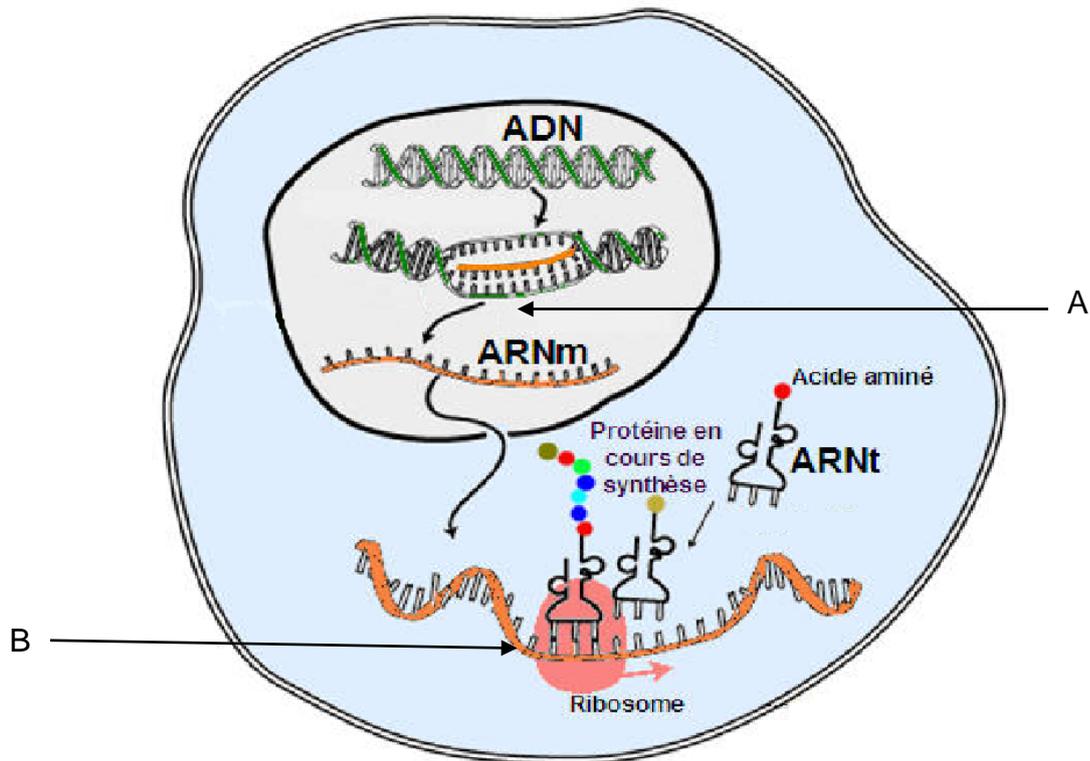
Le **document I** présente les résultats d'une étude portant sur les liens possibles existant entre l'infection virale et la présence de certaines glycoprotéines transmembranaires (CD81 et SR-B1). Trois types cellulaires sont mis en présence de VHC et l'intensité de l'infection est estimée en mesurant le nombre de particules virales dans le cytoplasme des cellules infectées.

- 2.8. Exploiter les résultats expérimentaux de cette étude et conclure sur l'origine des différents degrés d'infection.

## **Synthèse**

- 2.9. À partir de l'ensemble de cette étude, formuler une hypothèse proposant des pistes de thérapies possibles contre l'hépatite C.

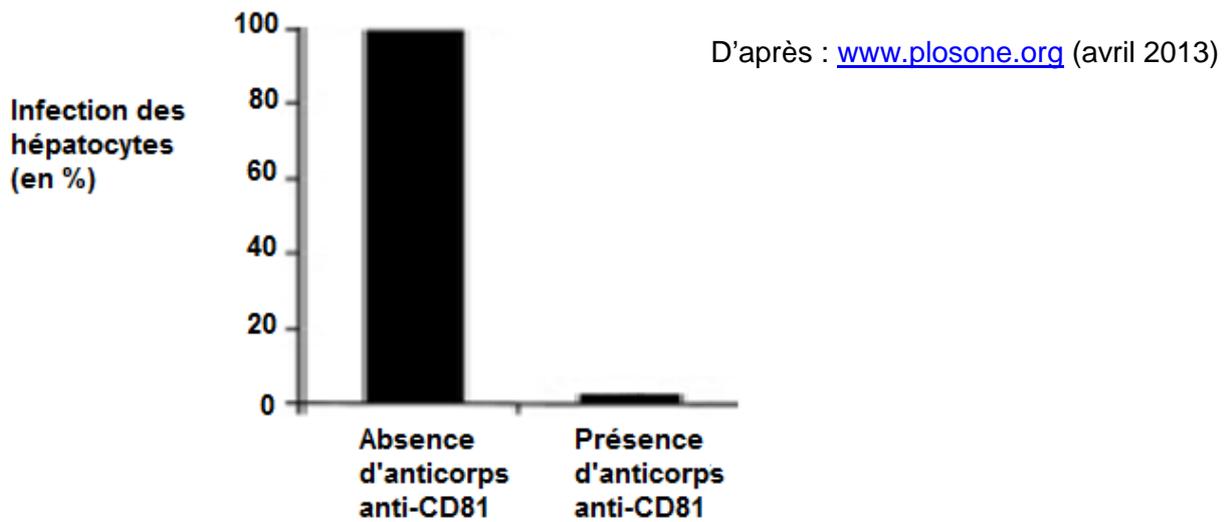
**Document E** : les étapes de l'expression d'un gène dans une cellule eucaryote  
 (source : [www.linternaute.com](http://www.linternaute.com))



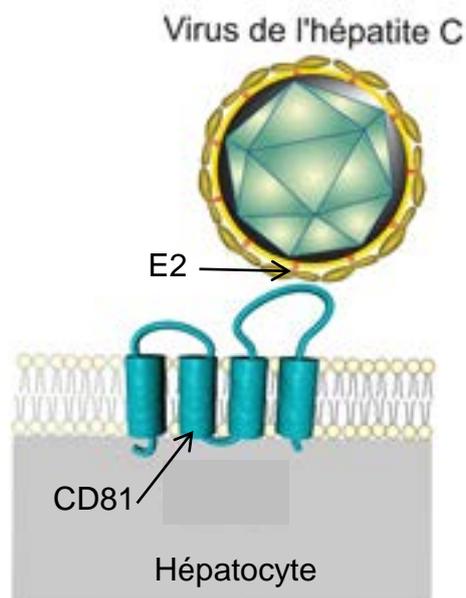
**Document F** : début de la séquence codante du gène de la glycoprotéine CD81

Echelle arbitraire	1	5	10	15	20			
Brin non transcrit	ATG	ATG	TTC	GTT	GGC	TTC	CTG	GGC
Brin transcrit	TAC	TAC	AAG	CAA	CCG	AAG	GAC	CCG

**Document G** : efficacité d'infection par le VHC d'hépatocytes en absence ou en présence d'anticorps anti-CD81



**Document H** : interaction entre le virus de l'hépatite C et un hépatocyte



**Document I** : étude du lien entre l'infection par le VHC et la nature de trois types cellulaires

Type cellulaire		Hépatocyte	Lymphocyte B	Cellule rénale
Glycoprotéines transmembranaires	CD81	+	+	-
	SR-B1	+	-	-
Nombre de particules virales cytoplasmiques au bout d'une heure d'incubation		+++	+	-

+ : présence

- : absence

Source : <http://www2.cnrs.fr>

Document de référence :

tableau du code génétique

		DEUXIEME NUCLEOTIDE					
		U	C	A	G		
PREMIER NUCLEOTIDE	U	UUU Phé	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	TROISIEME NUCLEOTIDE	U
		UUC Phé	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys		C
		UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop		A
		UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp		G
	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg		U
		CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg		C
		CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg		A
		CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg		G
	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser		U
		AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser		C
		AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg		A
		AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg		G
	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly		U
		GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly		C
		GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly		A
		GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly		G

# BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2017

## Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

Ce sujet comporte **10** pages.

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités sur des copies séparées.**

*L'usage de la calculatrice est autorisé.*

### Compétences évaluées

<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>C5</b>	<b>C6</b>
Extraire une information	Analyser un document	Expliquer une démarche	Argumenter une réponse	Construire une synthèse	S'exprimer à l'écrit
1 point	7 points	3 points	5 points	3 points	1 point

## SÉLECTION ET PRODUCTION D'UNE SOUCHE D'ASPERGILLUS UTILISÉE POUR LA PRODUCTION DE SAKÉ

Les moisissures du genre *Aspergillus* sont très largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire en Asie. Elles sont en particulier utilisées dans la production de saké, un vin de riz, titrant de 14 à 17 degrés alcooliques, exprimé en % ( $\frac{V}{V}$ ).

Au Japon, sa préparation se fait en ensemencant un mélange de riz et d'eau avec une culture pure d'une souche d'*Aspergillus* sélectionnée parmi trois espèces utilisées traditionnellement :

- *Aspergillus oryzae* ;
- *Aspergillus sojae* ;
- *Aspergillus kawachii*.

Certaines souches de moisissures du genre *Aspergillus* produisent des aflatoxines qui sont des toxines cancérigènes ne devant en aucun cas être retrouvées dans les aliments. Il convient ainsi, pour la production du saké, de sélectionner une espèce d'*Aspergillus* qui ne produit pas d'aflatoxine.

Une entreprise biotechnologique souhaite produire et commercialiser une de ces souches. Elle doit donc :

- optimiser sa production en déterminant les conditions de croissance optimales des moisissures du genre *Aspergillus* ;
- sélectionner la souche la plus adaptée à la production de saké, en choisissant une souche d'*Aspergillus*
  - ne produisant pas d'aflatoxine ;
  - permettant d'obtenir la meilleure fermentation.

### 1. DÉTERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES DE CULTURE DES MOISSURES DU GENRE ASPERGILLUS

L'entreprise souhaite déterminer les conditions optimales de culture du genre *Aspergillus*. Elle réalise, en bioréacteur, des expériences de production de biomasse en faisant varier certains paramètres physico-chimiques du milieu de culture.

Le **document 1** présente le bioréacteur utilisé.

**Q1.** À l'aide du **document 1**, identifier les dispositifs techniques du bioréacteur permettant de faire varier le pH, la température et l'oxygénation du milieu.

Les résultats obtenus pour les expériences de production de biomasse sont présentés sur le **document 2**.

**Q2.** À partir de l'analyse des courbes appropriées du **document 2**, déterminer les conditions optimales de pH et de température pour la croissance d'*Aspergillus*.

Une production test est en cours dans un fermenteur de l'entreprise. Le dispositif de régulation du pH est défaillant. L'alarme ne se déclenche que lorsque le pH est descendu à 4. La diminution de la concentration en biomasse par rapport à celle obtenue au pH optimum est alors de  $10 \text{ g.L}^{-1}$ .

**Q3.** Calculer la perte de biomasse en g pour un réacteur de 100 L.

Pour limiter cette perte de biomasse, l'entreprise souhaite que l'alarme se déclenche pour une diminution de la concentration en biomasse de  $3 \text{ g.L}^{-1}$ .

**Q4.** A l'aide du **document 2**, estimer les valeurs seuils de pH à partir desquelles l'alarme doit se déclencher.

## **2. RECHERCHE DE LA PRODUCTION D' AFLATOXINE PAR LES TROIS SOUCHES INDUSTRIELLES D' ASPERGILLUS**

L'aflatoxine est une molécule cancérigène dont la synthèse nécessite l'intervention de nombreuses enzymes.

Afin d'identifier les souches ne produisant pas d'aflatoxine, l'entreprise recherche la présence de l'un des gènes nécessaires à la biosynthèse de l'aflatoxine dans le génome des trois espèces d'*Aspergillus* traditionnellement utilisées.

Pour cela, une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est réalisée, à l'aide d'amorces spécifiques de ce gène, à partir de l'ADN extrait de chaque espèce. Le fragment amplifié mesure 750 pb.

Les produits de réactions de PCR sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose et l'électrophorégramme obtenu est présenté sur le **document 3**.

**Q5.** Expliquer le rôle des pistes 1 et 6 du **document 3**.

**Q6.** Analyser l'électrophorégramme obtenu pour valider la manipulation.

**Q7.** Analyser les résultats obtenus pour chacune des trois souches d'*Aspergillus* testées.

**Q8.** Conclure en lien avec l'objectif de l'entreprise.

## **3. RECHERCHE DE LA SOUCHE AYANT LA CAPACITÉ DE FERMENTATION OPTIMALE**

Pour pouvoir fermenter l'amidon du riz, il faut que la souche sélectionnée soit capable d'hydrolyser l'amidon en maltose grâce à l' $\alpha$ -amylase et ensuite de fermenter ce maltose en éthanol.

### **3.1. Détermination des paramètres cinétiques de l'alpha-amylase des différentes souches industrielles d'Aspergillus**

Un laboratoire de recherche a extrait les molécules d' $\alpha$ -amylase de chacune des trois souches disponibles et cherche à déterminer leurs paramètres cinétiques ( $K_M$  et  $v_{i \max}$ ).

**Q9.** A l'aide du **document 4**, estimer la vitesse initiale maximale ( $v_{i \max}$ ) de la réaction catalysée par l' $\alpha$ -amylase extraite d'*Aspergillus oryzae*.

**Q10.** Expliquer la démarche permettant d'en déduire que la constante de Michaelis ( $K_M$ ) pour cette enzyme est de  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ .

**Q11.** A partir des paramètres cinétiques estimés pour *Aspergillus oryzae* et des informations du **document 5**, argumenter le choix de la ou des espèces d'*Aspergillus* les plus favorables pour la production de saké.

### 3.2. Dosage de l'éthanol produit dans les sakés par les différentes souches d'*Aspergillus*

L'entreprise souhaite déterminer la concentration en éthanol obtenue lors de la fermentation de riz pour chacune des espèces d'*Aspergillus*. Elle utilise un coffret de dosage enzymatique dont la fiche technique est présentée dans le **document 6**.

Les indications et valeurs mesurées obtenues pour les trois souches disponibles sont présentées dans le **document 7**.

**Q12.** A l'aide du **document 6**, identifier les substrat(s) et enzyme(s) apportés par la solution réactionnelle.

**Q13.** A partir de l'équation aux grandeurs de la concentration en masse en éthanol, notée  $\rho_{(\text{éthanol}; \text{solution essai})}$ , fournie dans le **document 6**, établir l'équation aux unités.

**Q14.** A l'aide des **documents 6 et 7**, écrire l'équation aux valeurs numériques puis calculer la concentration en masse en éthanol du saké C, exprimée en  $\text{g.L}^{-1}$ .

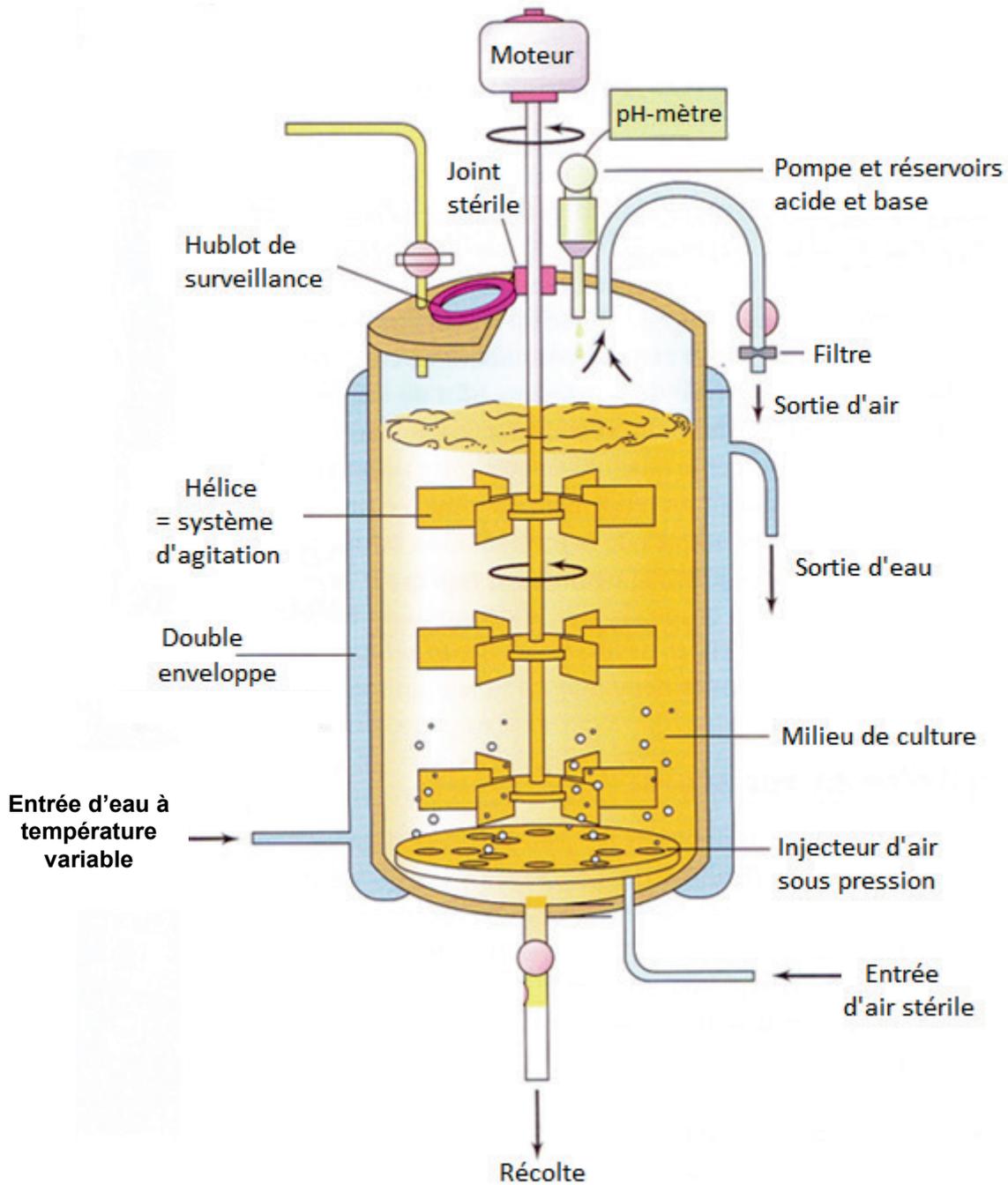
**Q15.** A l'aide du **document 8**, écrire l'équation aux valeurs numériques puis retrouver le titre du saké C exprimé en degré alcoolique, noté  $\% \left(\frac{V}{V}\right)$ .

**Q16.** Choisir la ou les espèces permettant d'obtenir un titre alcoolique suffisant pour la production de saké.

#### SYNTHÈSE

**Q17.** Rédiger une courte synthèse argumentant le choix de la souche d'*Aspergillus* la plus adaptée à la production de saké, en précisant les conditions optimales de développement de cette souche.

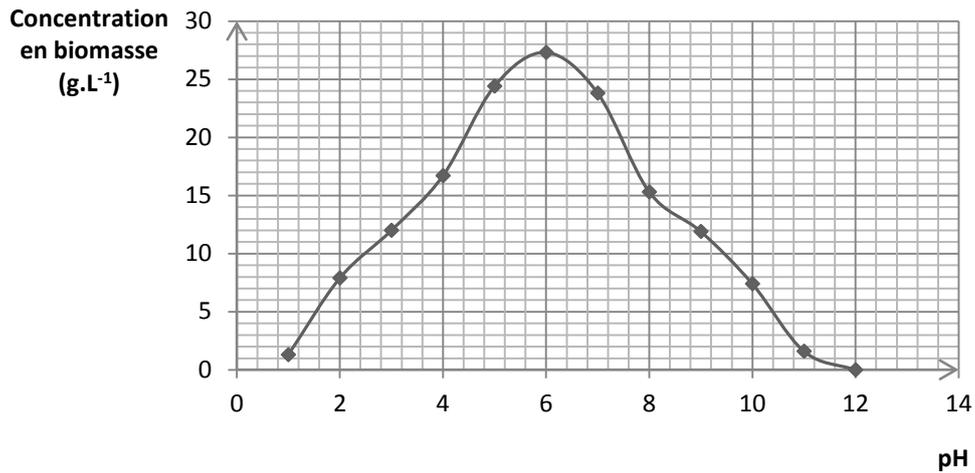
**DOCUMENT 1 - Schéma d'un bioréacteur industriel utilisé pour la production de biomasse.**



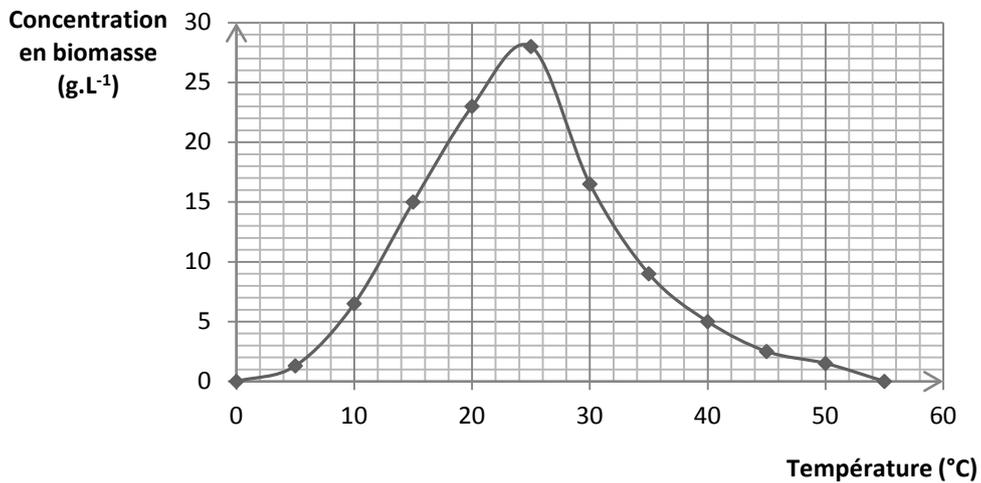
## DOCUMENT 2 - Etude des conditions de croissance d'*Aspergillus*

Les graphiques représentent l'évolution de la biomasse obtenue en phase stationnaire de croissance, pour différentes conditions de culture.

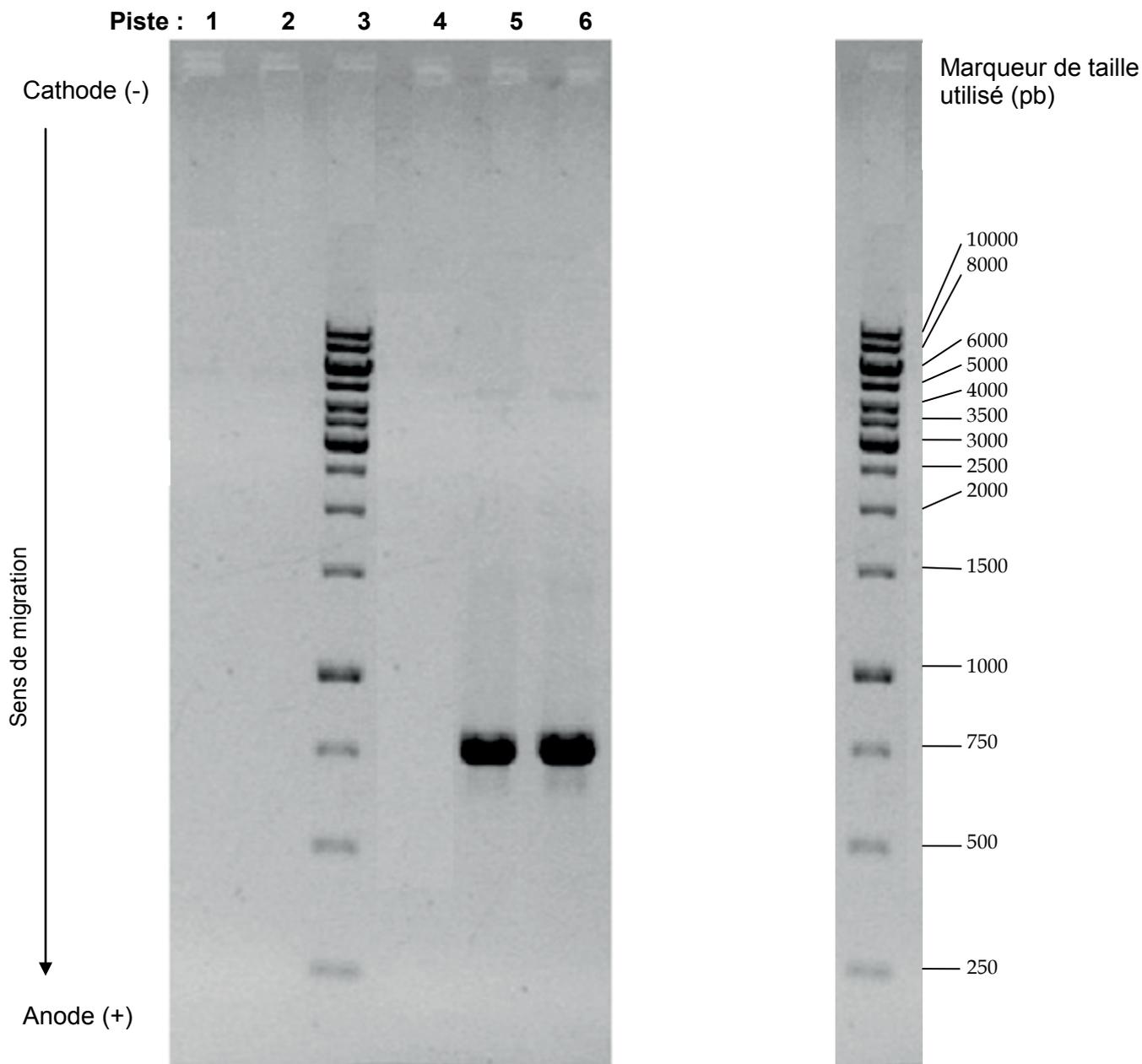
**Courbe A - Influence du pH sur la biomasse produite**



**Courbe B - Influence de la température sur la biomasse produite**



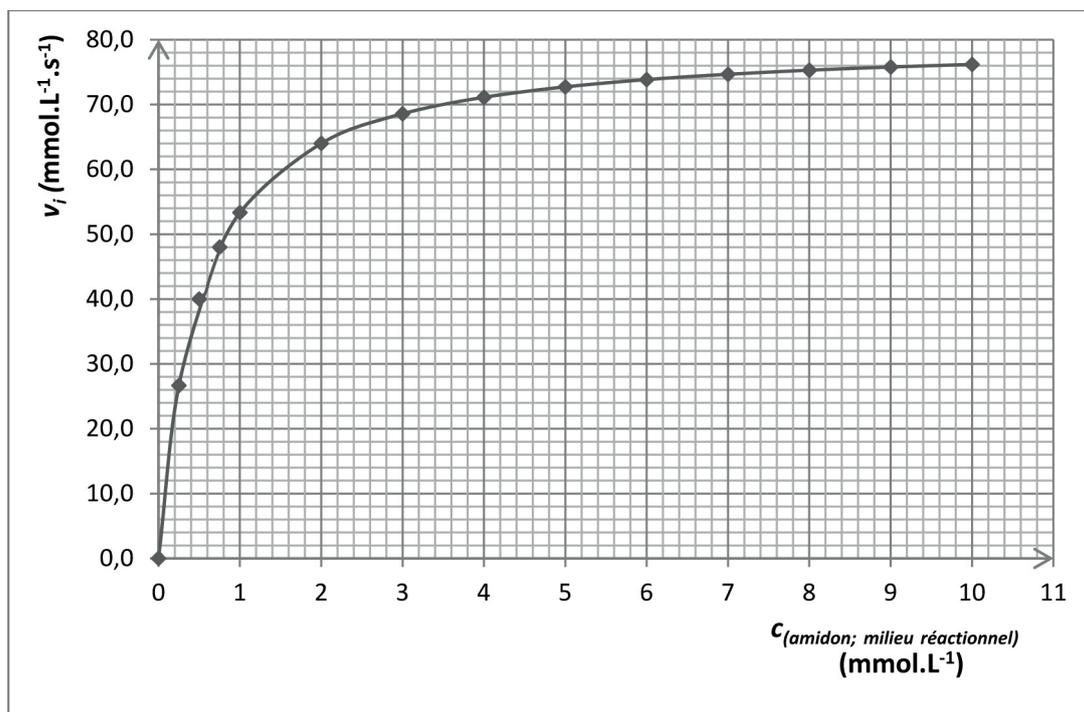
### DOCUMENT 3 - Electrophorégramme obtenu après migration des produits de réaction de PCR



#### Légende:

- **Piste 1** : PCR réalisée sans ADN matrice
- **Piste 2** : PCR réalisée sur l'ADN extrait d'*Aspergillus oryzae*
- **Piste 3** : Marqueur de taille
- **Piste 4** : PCR réalisée sur l'ADN extrait d'*Aspergillus sojae*
- **Piste 5** : PCR réalisée sur l'ADN extrait d'*Aspergillus kawachii*
- **Piste 6** : PCR réalisée avec un ADN connu possédant le gène nécessaire à la biosynthèse de l'aflatoxine

**DOCUMENT 4 – Etude de la cinétique de l'α-amylase extraite d'*Aspergillus oryzae***  
**Représentation de Michaelis et Menten**



**DOCUMENT 5 - Paramètres cinétiques des α-amylases extraites des trois souches d'*Aspergillus***

Les résultats suivants sont obtenus dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour *Aspergillus oryzae* (même volume d'échantillon et même quantité d'α-amylase) :

α-amylase extraite de la souche	<i>Aspergillus sojae</i>	<i>Aspergillus kawachii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
Paramètres cinétiques			
$K_M$ ( $\text{mmol.L}^{-1}$ )	0,5	0,8	0,5
$v_{i \max}$ ( $\text{mmol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$ )	68	60	Déterminée à la question 8

Donnée : On peut assimiler la constante de Michaelis ( $K_M$ ) à l'inverse de l'affinité de l'enzyme pour son substrat, c'est-à-dire :

$$\text{affinité} = \frac{1}{K_M}$$

## DOCUMENT 6 – Fiche technique du coffret de dosage enzymatique de l'éthanol

### Principe

Le coffret permet le dosage de l'éthanol grâce à deux réactions enzymatiques :



### Réactifs fournis :

- Solution réactionnelle
- Solution d'ADH

### Procédure opératoire

- Longueur d'onde : 340 nm
- Température : 25 °C
- Cuve UV : 1 cm de trajet optique
- Mesurer contre l'air

Introduire dans les cuves	Témoin	Essai
Solution réactionnelle	3,00 mL	3,00 mL
Eau distillée	0,10 mL	-
Solution essai	-	0,10 mL
Mélanger. Après environ 3 min, lire l'absorbance des solutions ( $A_1$ ). Déclencher la réaction par addition de :		
Solution d'ADH	0,05 mL	0,05 mL
Mélanger. Après réaction complète (environ 5-10 minutes), lire les absorbances des cuves ( $A_2$ ).		

Déterminer les différences d'absorbance ( $A_2 - A_1$ ) du témoin et de l'essai.

Déduire la différence d'absorbance  $\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{Essai}} - (A_2 - A_1)_{\text{Témoin}}$ .

### Calcul de la concentration en masse en éthanol

$$\rho(\text{éthanol; solution essai}) = \frac{V_{\text{total mélange réactionnel}} \times M_{\text{éthanol}}}{\epsilon_{\text{NADH,H}^+}^{340 \text{ nm}} \times l \times V_{\text{solution essai}} \times 2} \times \Delta A_{(\text{NADH,H}^+; \text{milieu réactionnel})}$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution.

### Données :

- $\epsilon_{\text{NADH,H}^+}^{340 \text{ nm}} = 6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- $M_{\text{éthanol}} = 46,07 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- $l = 1 \text{ cm}$
- $V_{\text{total mélange réactionnel}} = 3,15 \text{ mL}$

## DOCUMENT 7 – Dosage de l'éthanol du saké

Les sakés A, B et C ont été obtenus selon des procédés industriels strictement identiques, à partir des trois espèces d'*Aspergillus* sélectionnées :

- Pour le saké A : *Aspergillus sojae* ;
- Pour le saké B : *Aspergillus kawachii* ;
- Pour le saké C : *Aspergillus oryzae*.

Les indications de mesure du dosage de l'éthanol pour les différents sakés **dilués au 1/1000<sup>ème</sup>** sont présentées dans le tableau ci-dessous :

	Saké dilué au 1/1000					
	Saké A		Saké B		Saké C	
	Témoin	Essai	Témoin	Essai	Témoin	Essai
$A_1$ ( $\lambda = 340 \text{ nm}$ )	0,312	0,315	0,311	0,314	0,312	0,315
$A_2$ ( $\lambda = 340 \text{ nm}$ )	0,319	1,150	0,318	1,340	0,319	1,367

Résultats du dosage de l'éthanol dans les différents sakés non dilués :

	Saké A	Saké B	Saké C
$\rho_{\text{(éthanol ; saké)}} \text{ en g.L}^{-1}$	95,4	117,4	à déterminer
Titre en % (v/v)	12,1	14,9	15,2

## DOCUMENT 8 - Calcul du degré alcoolique d'une solution d'éthanol

Equation aux grandeurs :

$$\text{Degré alcoolique} = \frac{\rho_{\text{(éthanol ; saké C)}}}{\rho_{\text{éthanol}}} \times 100$$

Equation aux unités :

$$[\%] = \frac{[\text{g.L}^{-1}]}{[\text{g.L}^{-1}]} \times [\text{sans unité}]$$

Donnée :

$$\text{Masse volumique de l'éthanol } \rho_{\text{éthanol}} = 789 \text{ g.L}^{-1}$$