



MINISTÈRE  
DE L'ÉDUCATION  
NATIONALE

EAI BIO 1

SESSION 2019

---

**AGRÉGATION  
CONCOURS INTERNE  
ET CAER**

**Section : BIOCHIMIE - GÉNIE BIOLOGIQUE**

**PREMIÈRE ÉPREUVE**

Durée : 6 heures

---

*Le dictionnaire bilingue anglais français est autorisé.*

*L'usage de tout ouvrage de référence, de tout autre dictionnaire et de tout matériel électronique (y compris la calculatrice) est rigoureusement interdit.*

*Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence. De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.*

**NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.**

Tournez la page S.V.P.

A

## INFORMATION AUX CANDIDATS

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie.

Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

► **Concours interne de l'Agrégation de l'enseignement public :**

| Concours | Section/option | Epreuve | Matière |
|----------|----------------|---------|---------|
| EAI      | 7100A          | 101     | 0809    |

► **Concours interne du CAER / Agrégation de l'enseignement privé :**

|     |       |     |      |
|-----|-------|-----|------|
| EAH | 7100A | 101 | 0809 |
|-----|-------|-----|------|

Cette épreuve prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique. Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :

- mobiliser ses connaissances scientifiques et technologiques pour expliciter ou valider les solutions retenues ;
- utiliser une ressource proposée pour élaborer un support pédagogique permettant la transmission ou l'évaluation de connaissances et méthodes par les élèves à un niveau de formation déterminé.

Le candidat doit situer l'exercice dans un processus d'apprentissage et par rapport aux autres enseignements scientifiques ou technologiques qui lui sont associés.

-----

Dans le sujet, les lettres **ST** identifient les questions mobilisant les compétences et connaissances **s**cientifiques et **t**echnologiques, la lettre **P** identifie les questions d'ordre **p**édagogique.

Des extraits de référentiels et programmes des formations disciplinaires des filières STL et STS sont regroupés en annexe en fin de sujet (page **15**).

## L'eau : utilisations industrielles, traitements et analyses

Que ce soit pour un usage domestique ou dans un procédé de fabrication, la qualité de l'eau est essentielle. Dans les bio-industries, les exigences concernant l'eau vont de celles d'une eau potable pour la fabrication de produits agroalimentaires à celles d'une eau purifiée pour la fabrication de médicaments. Par ailleurs, la législation impose un traitement des effluents industriels afin de limiter leur impact sur l'environnement. L'eau fait donc l'objet de nombreux contrôles.

### 1. Analyse de l'eau : développement d'un procédé de détection des métaux lourds par biocapteur à base d'organismes vivants

Les métaux lourds (mercure, cadmium...) représentent des sources de pollution aussi diverses que difficiles à évaluer. Les techniques d'analyse conventionnelles, telles que la spectroscopie d'absorption atomique ou la spectrométrie de masse, sont spécifiques, précises et robustes mais présentent des coûts élevés et nécessitent une utilisation par un personnel qualifié dans le cadre limité d'un laboratoire. Récemment, la mise au point de biocapteurs a fourni une solution alliant spécificité, faible coût et facilité d'utilisation, portabilité et capacité de fournir des mesures en temps réel.

Parmi les différents outils biologiques développés, un modèle de poisson-zèbre transgénique pourrait représenter une solution avantageuse pour la mise en place d'un biocapteur spécialisé dans la détection de pollutions aux métaux lourds. En effet, le poisson-zèbre pond des œufs de grande taille faciles à féconder, ses larves sont transparentes et il produit une métalloprotéine de la famille des métallothionéines qui, suite à la fixation d'un ion métallique, est capable de se lier à l'ADN.

**ST1** Présenter les questions éthiques posées par l'utilisation d'animaux, notamment de poissons-zèbres transgéniques, en laboratoire.

#### 1.1. Développement du biocapteur (documents 1 et 2)

**ST2** A partir du **document 1**, établir un logigramme de la construction du vecteur d'expression recombinant.

**ST3** Montrer en quoi l'utilisation de différentes enzymes de restriction est nécessaire pour la construction de ce vecteur d'expression.

**ST4** Expliciter le rôle de chaque région de la construction génique pTol2-MT-la1-DsRed2.

**ST5** Expliquer pourquoi il est nécessaire de réaliser une co-injection.

## 1.2. Fonctionnement et performances du biocapteur

**P1** Proposer deux schémas de synthèse présentant le principe de fonctionnement de ce biocapteur à deux niveaux de formation : Terminale STL spécialité Biotechnologies et deuxième année de STS Biotechnologies.

**ST6** Expliciter les notions de seuil de détection, de sensibilité et de limites inférieure et supérieure d'une méthode de mesure.

**ST7** Analyser les résultats présentés dans le **document 3**.

Le **document 4** présente les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

**ST8** Discuter les limites de l'utilisation du biocapteur étudié.

## 2. L'eau de procédé en industrie pharmaceutique : amélioration du procédé de déminéralisation

Dans l'industrie pharmaceutique, de nombreux procédés de fabrication utilisent de l'eau purifiée ou de l'eau ultrapure qui sont obtenues par des techniques de déminéralisation plus ou moins poussées. Un technicien de la branche R&D d'une industrie pharmaceutique a en charge d'améliorer la qualité de l'eau de procédé en travaillant sur l'étape de déminéralisation.

Le processus de déminéralisation de l'eau actuellement utilisé est résumé dans le **document 5A**. Il fait intervenir un déminéralisateur à lits séparés régénérable à co-courant (type 1).

**ST9** Dégager le principe de la technique utilisée pour déminéraliser l'eau de procédé et régénérer les colonnes.

**ST10** Présenter et expliquer l'évolution du pH en sortie de chaque colonne au cours de la phase de production d'eau déminéralisée. Montrer l'intérêt de ce suivi.

**P2** A l'aide du **document 5A**, proposer une activité permettant, à travers l'exemple de la déminéralisation, l'appropriation du concept d'échange d'ions par les étudiants dans le cadre d'une séance en STS. Préciser les objectifs, modalités, ainsi que l'organisation pédagogique de l'activité proposée.

Le nouveau déminéralisateur testé par le technicien est un déminéralisateur à lits séparés associé à une colonne à lits mélangés ou mixtes (type 2) dont le principe est présenté dans le **document 5B**. La colonne à lits mélangés ou mixtes est une colonne dans laquelle les résines cationiques et anioniques sont intimement mélangées.

**ST11** Présenter de manière synthétique le ou les avantages de l'utilisation d'un déminéralisateur de type 2 par rapport à celle d'un déminéralisateur de type 1.

Le **document 6** présente un exercice donné à des étudiants de STS.

**P3** Proposer un corrigé de cet exercice à destination des étudiants.

### **3. Traitement des effluents d'une brasserie**

Les effluents d'une brasserie sont fortement chargés en matière organique. Un des paramètres mesurés est la demande biochimique en oxygène pendant 5 jours ( $DBO_5$ ) : elle représente la part facilement biodégradable des matières organiques. Le **document 7** présente le principe de la méthode de détermination de la  $DBO_5$ .

**ST12** Expliquer l'intérêt de chaque condition opératoire présentée dans ce document.

La brasserie doit obligatoirement appliquer un traitement visant à diminuer la  $DBO_5$  de ses effluents avant rejet dans le système d'assainissement collectif. Or, les procédés de traitement couramment utilisés sont consommateurs d'énergie, pesant à la fois sur les charges d'exploitation et sur l'impact environnemental de la brasserie. Un laboratoire développe alors une technologie de pile à combustible microbienne visant à convertir en énergie électrique une partie du potentiel bioénergétique contenu dans la matière organique de l'effluent. Le **document 8** présente le principe de cette bio-pile. Le biofilm, notamment composé de *Geobacter sp.*, est responsable de la dégradation anaérobie de la matière organique au niveau de l'anode.

**ST13** Expliquer le fonctionnement de la bio-pile en précisant les entrées et les sorties de matière dans chaque compartiment.

Le **document 9** présente certains aspects du métabolisme énergétique de *Geobacter*.

**ST14** Définir la notion de respiration anaérobie et montrer comment certains éléments du métabolisme de *Geobacter* permettent de répondre à cette définition.

Le **document 9** proposé n'est cependant pas assez explicite pour une exploitation pédagogique en STS et doit donc être complété.

**P4** Construire un schéma de synthèse destiné à un cours de microbiologie en STS montrant en quoi ce métabolisme est une respiration anaérobie.

Des chercheurs ont étudié le rôle du biofilm de *Geobacter* dans le fonctionnement de cette bio-pile. Le **document 10** présente deux modèles de transfert d'électrons entre le biofilm de *Geobacter* et l'anode.

**ST15** Rappeler les caractéristiques d'un biofilm. Préciser les principaux avantages d'une organisation en biofilm pour des micro-organismes.

**ST16** Préciser, en justifiant, le rôle de l'anode de cette bio-pile dans le métabolisme de *Geobacter*.

**ST17** A partir du mécanisme proposé dans le **document 10**, montrer comment l'organisation du biofilm de *Geobacter* permet d'optimiser le fonctionnement de la bio-pile.

## Document 1 : construction du vecteur d'expression

Adapté de Pawar N. et al. Development of a fluorescent transgenic zebrafish biosensor for sensing aquatic heavy metal pollution. *Transgenic Res.* 2016; 25(5): 617-27.

The metallothionein la1 (MT-la1) gene promoter (1190 bp) was amplified from genomic DNA of green mussel, *P. viridis* using Pvir-MTI forward (Pvir-MTI-F) (TCCTTCCTCAGCATGAAAC) and Pvir-MTI reverse (Pvir-MTI-R) (AAGTGGCTGTATGTCTCAGTTG) primers.

A 25 µL PCR mix consisting of 1 µL of template (75 ng), 1 µL each of forward and reverse primers (10 pmol), 2 µL of dNTPs (2.5 mM each), 2.5 µL of 10X Taq buffer (with 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>) and 0.25 µL (1 U) of Taq DNA polymerase was prepared in nuclease-free water. PCR conditions included initial denaturation at 95 °C for 5 min; followed by 35 cycles of 94 °C for 30 s, 52 °C for 30 s and 72 °C for 1 min; and final extension at 72 °C for 8 min. The amplicon was T/A cloned and confirmed by sequencing.

The promoter was then amplified from the clone using linker primers having BglII and EcoRV sites in the above-mentioned forward and reverse primers, respectively. This fragment was directionally cloned into the pTol2 vector.

The DsRed2 reporter gene (922 bp) was PCR-amplified from pFRM-DsRed2 plasmid using linker primers (DsRed2-F: AAAGATATCAGTTCAGCCGGAATTCACC and DsRed2-R: AAAAAGCTTACAGAGTGAGCCGATCCGAG) with EcoRV and HindIII RE sites in the forward and reverse primers, respectively.

PCR conditions were the same as above except that the annealing temperature was set at 55 °C. The amplicon was gel-purified, digested with EcoRV and HindIII restriction enzymes and cloned downstream to the MT-la1 promoter in the similarly digested pTol2-MT-la1 plasmid.

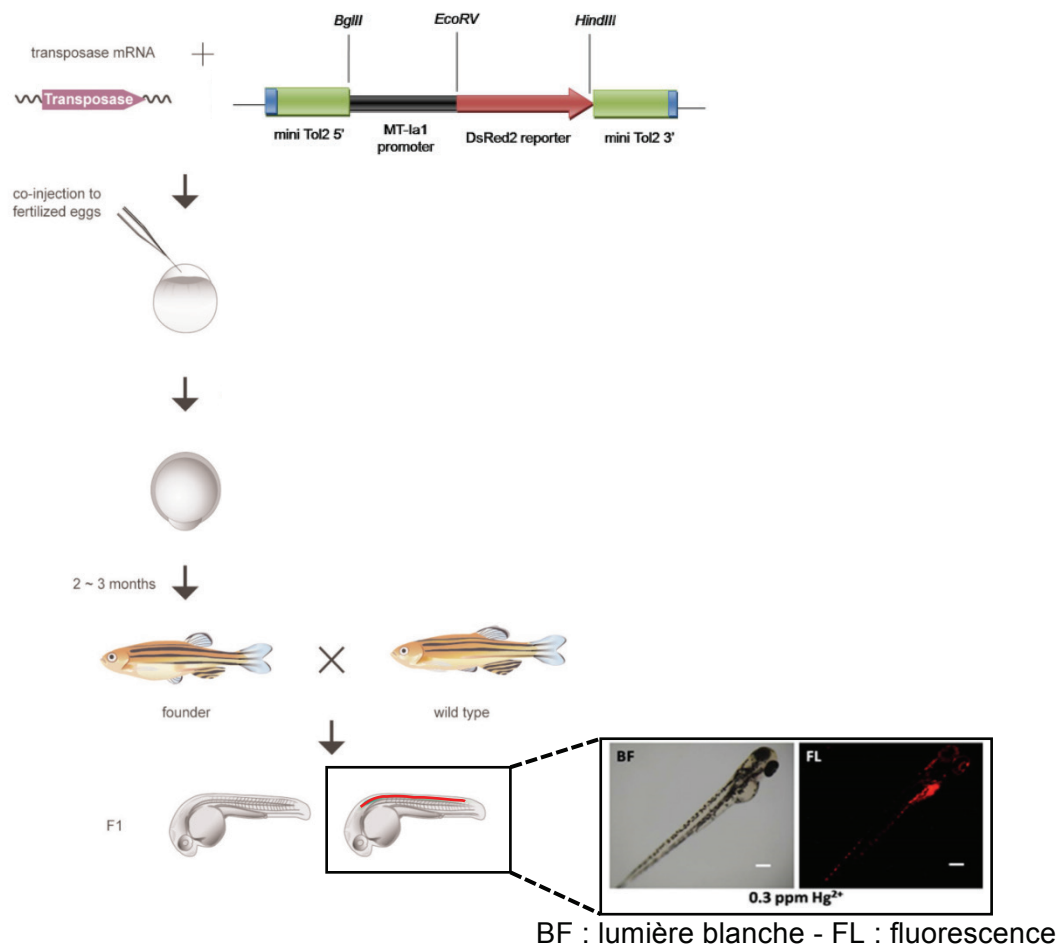
The construct with the promoter-reporter cassette was transformed into *E. coli* DH5α cells. Positive clones were confirmed by colony PCR and sequencing.



## Document 2 : production du biocapteur

Adapté de Kawakami K. *Tol2: a versatile gene transfer vector in vertebrates. Genome Biol.* 2007; 8 (Suppl 1):S7 et de Pawar N. et al. Development of a fluorescent transgenic zebrafish biosensor for sensing aquatic heavy metal pollution. *Transgenic Res.* 2016; 25(5): 617-27.

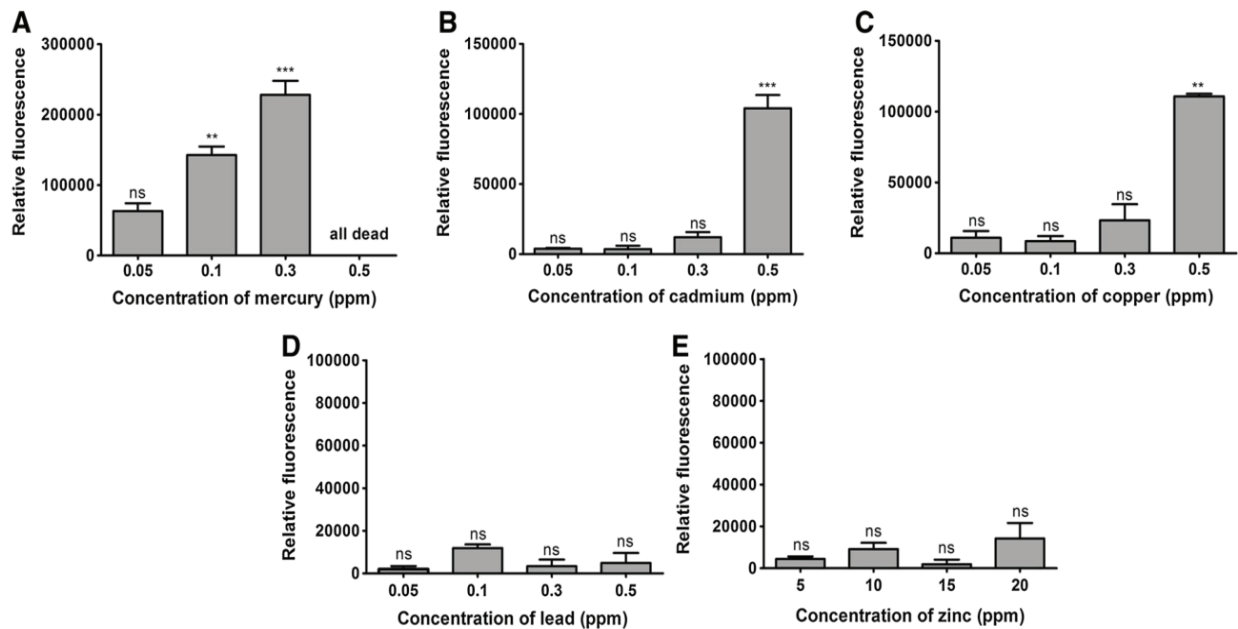
The medaka fish *Tol2* element is an autonomous transposon that encodes a fully functional transposase. Mini Tol2 sequences represent the minimal sequences necessary for transposition without native transposase production. The transposase protein can catalyze transposition of a transposon construct that has 200 and 150 base pairs of DNA from the left and right ends of the *Tol2* sequence, respectively. These sequences contain essential terminal inverted repeats and subterminal sequences. DNA inserts of fairly large sizes (as large as 11 kilobases) can be cloned between these sequences without reducing transpositional activity. The *Tol2* transposon system has been shown to be active in all vertebrate cells tested thus far, including zebrafish, *Xenopus*, chicken, mouse, and human. The biosensor construct was named pTol2-MT-1a1-DsRed2.



Le croisement entre un individu « founder » et un individu sauvage (wild type) permet l'obtention d'un groupe d'individus transgéniques (individus encadrés) au sein de la génération F1. Ces individus seront sélectionnés et accouplés avec des individus sauvages pour l'obtention de nouveaux embryons transgéniques.

### Document 3 : quantification de la fluorescence émise par les larves F1 de poisson zèbre transgéniques exposées à des métaux

Adapté de Pawar N. et al. Development of a fluorescent transgenic zebrafish biosensor for sensing aquatic heavy metal pollution. *Transgenic Res.* 2016; 25(5): 617-27.



**Fig. 3** Quantification of DsRed2 fluorescence in F<sub>1</sub> transgenic zebrafish larvae exposed to Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> or Zn<sup>2+</sup> (a–e) at different doses. The mean fluorescence intensity values normalized to background fluorescence from un-induced

controls for each experimental group were plotted. Data represents mean ± SEM. (ns not significant; \*\**p* < 0.01; \*\*\**p* < 0.001)

### Document 4 : limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine

Extrait de l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine (...).

*Annexe 1 : limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux conditionnées*

| paramètre chimique | limite de qualité | unité              |
|--------------------|-------------------|--------------------|
| mercure            | 1,0               | µg.L <sup>-1</sup> |
| cadmium            | 5,0               | µg.L <sup>-1</sup> |
| cuiivre            | 2,0               | mg.L <sup>-1</sup> |
| plomb              | 10                | µg.L <sup>-1</sup> |

## Document 5 : procédés de déminéralisation de l'eau

Adapté de la revue *STP pharma pratique* et du *Suez water handbook*

### A. Fonctionnement du déminéralisateur de type 1

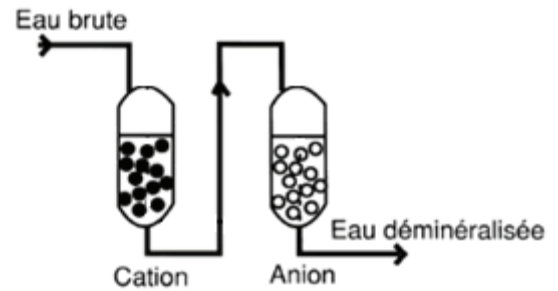
Dans l'industrie pharmaceutique, l'obtention d'une eau purifiée passe par des critères de minéralisation ionique résiduelle spécifique selon les différents sels. L'eau déminéralisée doit donc satisfaire à plusieurs tests successifs avant d'être utilisable en production.

Dans la pratique, les industriels exploitent leur installation de déminéralisation selon un critère facile à suivre en continu : la résistivité. Celle-ci doit être suffisamment élevée pour s'assurer que l'eau déminéralisée satisfera aux tests de contrôle précisés dans la pharmacopée. La valeur de résistivité généralement retenue est :  $\geq 1 \text{ M}\Omega\text{-cm}$  à  $25^\circ\text{C}$ .

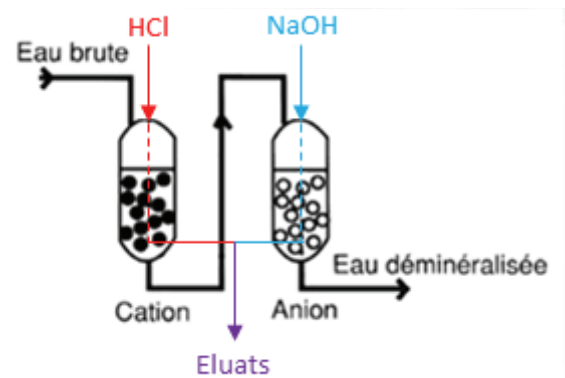
Depuis de nombreuses années, les industriels exploitent des déminéralisateurs pour atteindre ou dépasser cet objectif de résistivité.

1) Les déminéralisateurs à lits séparés régénérables à courant continu. Ce type de déminéralisateur a pour principe la traversée successive par l'eau des résines cationiques et anioniques du haut de la colonne vers le bas. Lorsque les résines sont saturées et qu'il faut les régénérer, les réactifs HCl et NaOH traversent les résines également dans ce sens.

En fin de régénération, les résines les mieux régénérées sont donc situées dans le haut de la colonne. Ainsi, lorsque l'eau à traiter passera sur les résines, et que les ions monovalents seront déplacés vers le bas des colonnes, ils rencontreront des résines de moins en moins bien régénérées ; ils se fixeront difficilement et il se produira une « fuite ionique ».



Etape de déminéralisation



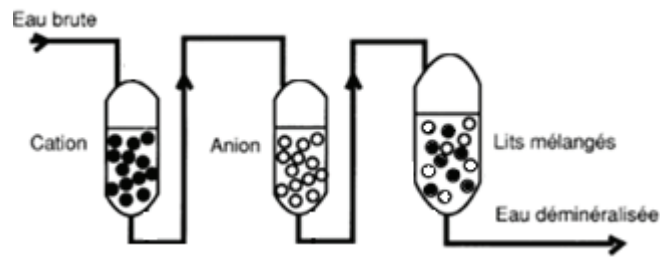
Etape de régénération

**Tableau II - Principes de déminéralisation.**

|  |
|--|
| Conductivité de l'eau pure<br>Conductivité = $1/\text{résistivité}$<br>$0,055 \mu\text{S/cm} = 18,2 \text{ M}\Omega\text{-cm}$ à $25^\circ\text{C}$  |
| Echange cationique<br>$\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2 + \text{H}_2 \text{résine} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{Ca résine}$<br>$\text{Mg SO}_4 + \text{H}_2 \text{résine} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{Mg résine}$<br>$\text{NaCl} + \text{H résine} \rightarrow \text{HCl} + \text{Na résine}$                               |
| Echange anionique<br>$\text{H}_2\text{CO}_3 + (\text{OH})_2 \text{résine} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_3 \text{résine}$<br>$\text{H}_2\text{SO}_4 + (\text{OH})_2 \text{résine} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{SO}_4 \text{résine}$<br>$\text{HCl} + \text{OH résine} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{Cl résine}$ |
| Affinités des résines<br>Cations : $\text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{H}^+$<br>Anions : $\text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{SiO}_2$  |

## B. Fonctionnement du déminéralisateur de type 2

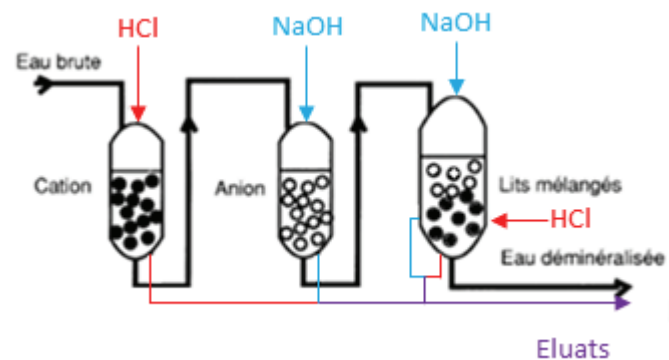
Ce procédé diffère essentiellement des solutions à lits séparés du fait que **deux résines fortes**, cationique et anionique, sont réunies dans une seule colonne. Elles sont intimement mélangées. Les grains de résine ainsi disposés côte à côte se comportent donc comme une infinité d'échangeurs de cations et d'anions en série.



Etape de déminéralisation

Pour effectuer la régénération, les deux résines sont classées hydrauliquement lors du détassage. La résine anionique, plus légère, se place au-dessus, la résine cationique, plus lourde, se dépose dans le fond.

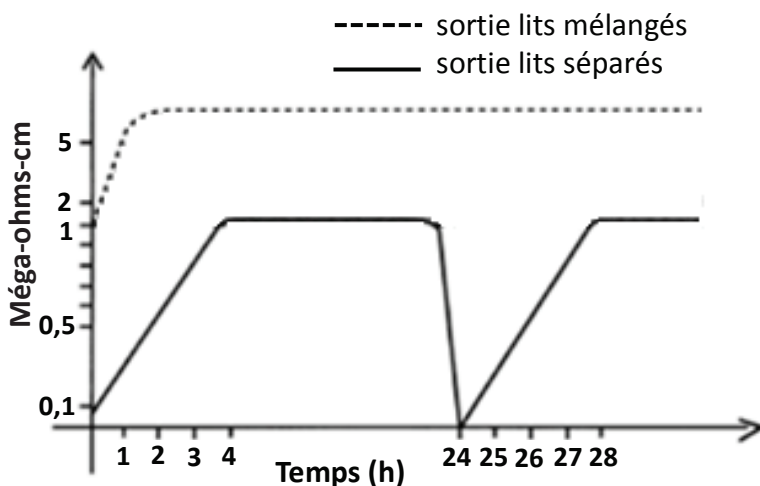
Après séparation des résines, chacune d'elles est régénérée séparément, respectivement avec de la soude caustique et un acide fort. L'excès de régénérant est ensuite évacué par rinçage de chaque lit.



Etape de régénération

Après vidange partielle de l'appareil, les résines sont mélangées à l'air comprimé. On termine le rinçage et l'appareil est prêt pour un nouveau cycle.

## C. Comparaison des deux types de déminéralisateurs par le suivi de la résistivité au cours du temps



Temps de régénération + montée en résistivité :

- Lits séparés : 3 à 6 h
- Lits mélangés : 2 à 4 h

## Document 6 : énoncé d'exercice en STS

Dans une usine de produits pharmaceutiques, une chaîne de déminéralisation est équipée d'une résine cationique forte. Cette dernière peut être régénérée par une solution d'acide chlorhydrique lorsque c'est nécessaire.

A l'aide des données ci-dessous, déterminer la durée maximale d'une phase de production.

| Caractéristiques de l'eau brute                  |                                   |
|--|-----------------------------------|
| Concentration en cations                         | 10 mEq.L <sup>-1</sup>            |
| Caractéristiques de l'installation de traitement |                                   |
| Volume de résine                                 | 200 L                             |
| Capacité totale d'échange de la résine           | 2 Eq.L <sup>-1</sup>              |
| Débit de production                              | 5 m <sup>3</sup> .h <sup>-1</sup> |

## Document 7 : principe de la détermination de la DBO<sub>5</sub>

Extrait de la norme NF EN 1899-1 de mai 1998 (Afnor)

*Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO<sub>n</sub>)*

### 4 Principe

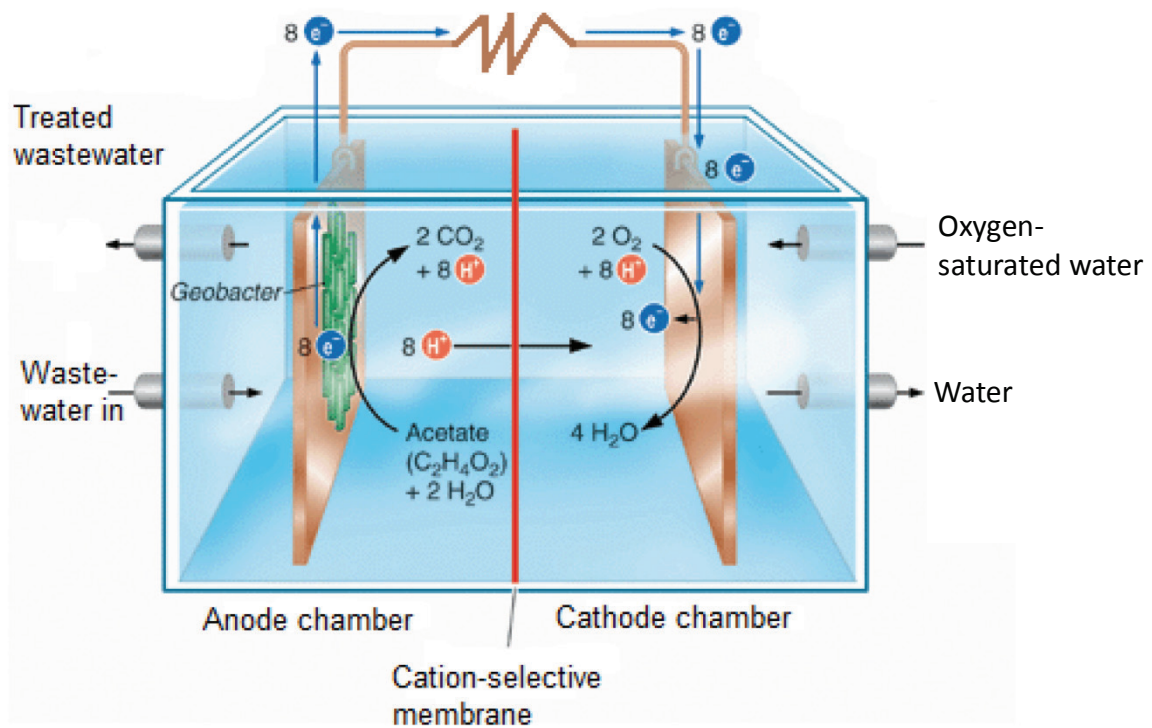
Prétraitement de l'échantillon d'eau à analyser et dilution avec différentes quantités d'eau de dilution enrichie en oxygène dissous et contenant un ensemencement de micro-organismes aérobies, avec suppression de la nitrification.

Incubation à 20 °C pour une durée fixée de 5 jours ou 7 jours, à l'obscurité, dans un flacon entièrement rempli et fermé. Détermination de la concentration en oxygène dissous avant et après incubation. Calcul de la masse d'oxygène consommé par litre d'échantillon.

Remarque : la suppression de la nitrification est obtenue par apport d'allyl-thio-urée.

## Document 8 : bio-pile permettant le traitement d'un effluent de brasserie et la production d'électricité

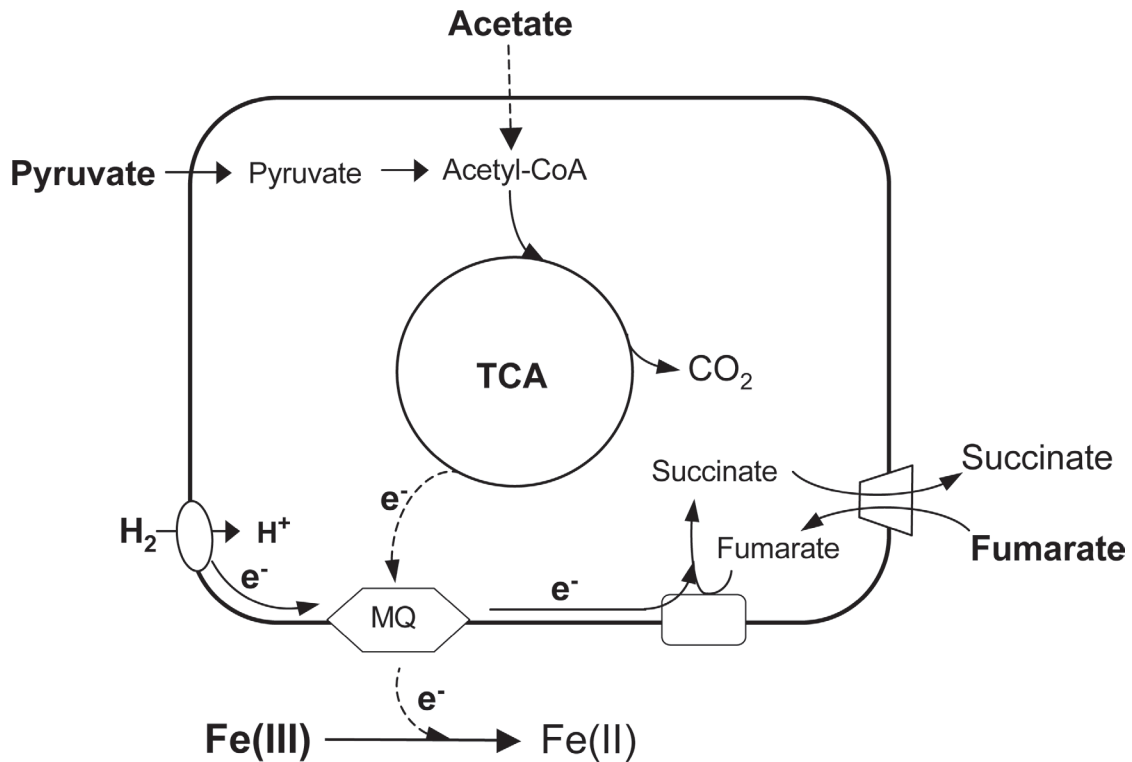
Adapté de Lopez Zavala et al. Hybrid system for wastewater treatment and simultaneous production of electricity and hydrogen: modeling approach. *Fifth international symposium on energy from biomass and waste*. 2014.



## Document 9 : métabolisme de *Geobacter*

### A : Résumé du métabolisme énergétique de *Geobacter sulfurreducens*

Extrait de Segura et al. Computational and experimental analysis of redundancy in the central metabolism of *Geobacter sulfurreducens*. *PLoS Comput. Biol.* 2008; Feb;4(2):e36.



TCA : tricarboxylic acid cycle  
MQ : menaquinone pool

### B : Potentiels standard d'oxydo-réduction

Extrait de « La Biochimie » de Lubert Stryer

| Couple redox                     | E' <sub>0</sub> (V) |
|----------------------------------|---------------------|
| acétate/acétaldéhyde             | -0,60               |
| H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub>   | -0,42               |
| NAD <sup>+</sup> /NADH           | -0,32               |
| acétaldéhyde/éthanol             | -0,20               |
| pyruvate/lactate                 | -0,19               |
| fumarate/succinate               | +0,03               |
| Fe(III)/Fe(II)                   | +0,77               |
| O <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O | +0,82               |



## Document 10 : transport extracellulaire d'électrons dans le biofilm de *Geobacter*

Adapté de Bonanni et al. A long way to the electrode: how do *Geobacter* cells transport their electrons? *Biochem. Soc. Trans.*, 2012; Dec 1;40(6):1274-9.

Cette figure présente deux modèles pour expliquer le transport d'électrons au sein du biofilm depuis la membrane interne de *Geobacter* jusqu'à l'électrode de la bio-pile.

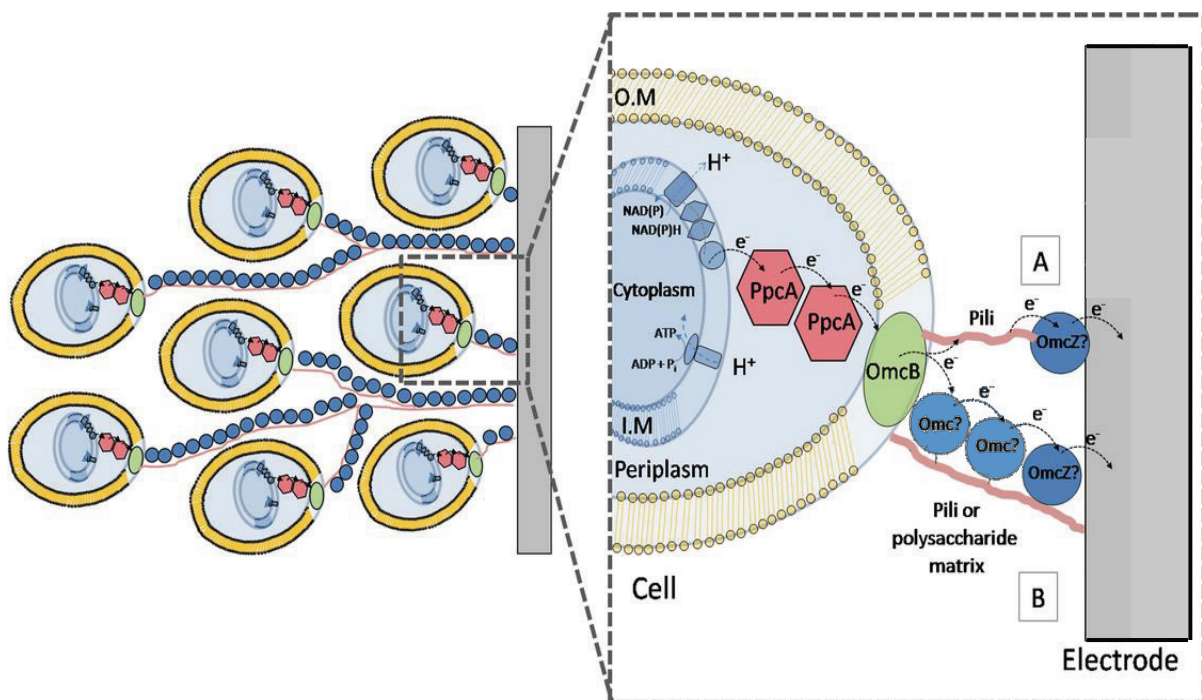
### Partie gauche de la figure

Le transport d'électrons au sein du biofilm implique à la fois les pili (représentés par des filaments roses) et des cytochromes c extracellulaires (ronds bleus).

### Partie droite de la figure

**Modèle A** (*metallic-like conduction*): les filaments protéiques conducteurs conduisent le courant (pili modifiés appelés *nanowires*) jusqu'au cytochrome c (OmcZ) qui transfère les électrons à l'électrode.

**Modèle B** (*electron-hopping/superexchange*): les électrons sont transférés grâce à une chaîne de réactions d'oxydo-réduction entre les cytochromes extracellulaires. Les pili jouent alors un rôle structural. Ils sont un support qui permet un agencement ordonné des cytochromes, rendant le transfert d'électrons plus efficace.



I.M: inner membrane

PpcA: periplasmic cytochrome A

O.M: outer membrane

Omc: outer membrane cytochrome



# ANNEXES

## Extraits du référentiel de STS Biotechnologies

### Module 1 : Biologie moléculaire et Génie génétique

#### Section 1 : STRUCTURES ET FONCTIONS DES ACIDES NUCLÉIQUES

Plutôt que de rechercher l'exhaustivité, on s'attachera à la clarification et la structuration des notions de base.

| INTITULÉ DU PROGRAMME   | COMMENTAIRES  |  | COURS | TP |
|---|---|--|-------|----|
|   | COURS   | TRAVAUX PRATIQUES  |       |    |
| <b>1-3- Organisation des gènes et des génomes</b>   |   |  |       |    |
| Les informations génétiques et leurs interrelations   | Schéma d'ensemble : réplication de l'ADN et de l'ARN, transcription et rétro-transcription ...  |  | X     |    |
| Le code génétique   | Dégénérescence, quasi-universalité, usage des codons ...  |  | X     |    |
| Structure des gènes procaryotes   | - Brins codant et transcrit<br>- Cadres ouverts de lecture (ORF)<br>- Signaux consensus d'expression : promoteur, site de fixation aux ribosomes, terminateur ...<br>- Séquence codant une protéine (cds)   |  | X     |    |
| Structure des gènes eucaryotes  | - Différents types de gènes<br>- Introns, exons<br>- Signaux consensus : sites d'épissage ...   |  | X     |    |
| Plasticité de l'information génétique   | Quelques exemples :<br>- épissage alternatif,<br>- notion d'édition des ARNm<br>- remaniements des gènes des immunoglobulines   |  | X     |    |
| Caractéristiques de quelques génomes  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ virus, bactéries, levures, végétaux, mammifères</li> <li>▪ <i>Eviter de faire un catalogue des génomes connus, l'objectif étant de faire ressortir les caractéristiques majeures de chaque exemple, notamment :</i></li> <li>- tailles, nombres de gènes, complexité</li> <li>- les opérons procaryotes</li> <li>- pour les eucaryotes : diploïdie et allèles, séquences répétées, polypléidies des végétaux, ADN mitochondrial et chloroplastique (nature et coopérations génétiques avec le génome) ...</li> </ul> |  | X     |    |
| Marqueurs génétiques et polymorphismes  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Définir les principaux marqueurs</li> <li>Exemples : sites de restriction, STS ("Sequence Tagged Sites"), microsatellites, SNP ("single nucleotides polymorphism")</li> <li>▪ Définir les polymorphismes de taille et de séquence</li> <li>▪ Introduire leur utilisation en cartographie et en génotypage</li> </ul>   | Mise en évidence d'un polymorphisme génétique                        | X     | X  |
| Stabilité et évolution des génomes<br>- les familles de gènes<br>- arbres phylogénétiques (notions)<br>- les éléments génétiques mobiles    | Gènes homologues, duplication des gènes (en liaison avec le module 6)<br><br>Existence de transposons, de rétrovirus  |  | X     |    |
| <b>1-6- Contrôle transcriptionnel de l'expression des gènes</b>   |   |  |       |    |
| Chez les procaryotes :<br>- L'opéron lactose d' <i>E.coli</i> et la répression catabolique<br>- Généralisation et autres exemples d'opérons | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ L'utilisation de l'opéron lactose dans les vecteurs de clonage et d'expression sera vue en Sections 2 et 3</li> <li>▪ Un opéron d'une voie de biosynthèse en liaison avec le module 4</li> </ul>   | Une cinétique d'induction sera réalisée en liaison avec le module 4. | X     | X  |
| Chez les eucaryotes :<br>- les différents types de séquences régulatrices<br>- les facteurs de transcription                                | On se limitera à des notions simples sur les acteurs et les événements<br><br>- Intervenant dans l'initiation<br>- Transrégulateurs   |  | X     |    |

### Section 3 : EXEMPLES d'APPLICATIONS du génie génétique

On s'efforcera, à travers des exemples significatifs, de montrer l'apport du génie génétique dans différents domaines.

| <b>3-2- Analyses du transcriptome et du protéome et Génomique fonctionnelle : notions de base</b>   |  |   |   |   |
|---|--|---|---|---|
| On privilégiera pour ces connaissances "culturelles" la logique de la méthode aux détails techniques<br><i>Les parties pouvant faire l'objet de questions à l'examen sont soulignées.</i> |  |   |   |   |
|   | <i>L'étude de l'expression individuelle d'un gène au niveau transcription et au niveau traduction, par des techniques vues dans les chapitres antérieurs, sera rappelée</i>                | On pourra mettre en oeuvre l'une des techniques, en fonction des possibilités matérielles, par exemple :<br>- RT-PCR, matrice d'ADN<br>- western blot, IEF et électrophorèse 2D ( <i>en relation avec le module 3</i> ) | X | X |
| L'analyse globale du transcriptome à l'aide de matrices d'ADN   | <u>Le principe et la mise en oeuvre des puces à ADN doivent être connus.</u><br>Des exemples d'utilisation seront donnés pour l'analyse du transcriptome et dans le domaine du diagnostic. |   | X |   |
| La démarche protéomique   | <u>Le principe résumé doit être connu.</u><br>La nécessité en sera montrée   |   | X |   |
| Les recherches d'interactions   | La recherche de partenaires d'interaction par exemple par double-hybride sera exposée succinctement.   |   | X |   |
| L'inactivation ciblée des gènes   | Présentation simple des principales stratégies   |   | X |   |
| <b>3-3- Applications diagnostiques et médicales du génie génétique : exemples</b>   |  |   |   |   |
| <i>Les exemples seront choisis en fonction de l'état des avancées technologiques, parmi les thèmes incontournables du moment (ou du moins jugés comme tels).</i>                          |  |   |   |   |
| Détection de microorganismes  | Par exemple : recherche et caractérisation de bactéries pathogènes par PCR   | Un exemple d'application de la PCR pourra être mis en oeuvre  | X | X |
| Typage génique et détection de mutations  | Par exemple : analyse du polymorphisme de marqueurs microsatellites  |   |   |   |
| Thérapie génique  | En fonction des avancées scientifiques et de la législation en cours   |   | X |   |

## Module 3 Biochimie structurale et fonctionnelle des protéines

### Section 3 : Exemples de protéines

*L'objectif est de présenter la structure des principales catégories de protéines, en insistant sur les relations structure-fonction ; les fonctions ne sont pas à traiter ici de manière exhaustive. Cette première approche doit être claire et synthétique. La section 3-6 nécessite cependant un développement.*

*Pour traiter cette section, on pourra faire appel, en complément de documents bibliographiques, à l'usage d'un logiciel de visualisation tridimensionnelle de biomolécules.*

| INTITULÉ DU PROGRAMME                              | COMMENTAIRES  |                   | COURS | TP |
|--|---|-------------------|-------|----|
|  | COURS   | TRAVAUX PRATIQUES |       |    |
| <b>3-5- Exemples de protéines affines de l'ADN</b> |   |                   |       |    |
|  | <i>En liaison avec le module 1</i>  |                   |       |    |
| Les deux niveaux d'affinité                        | Haute et basse affinités pour l'ADN   |                   | X     |    |
| Les histones                                       |   |                   | X     |    |
| Les endonucléases de restriction                   | Symétrie de reconnaissance et stéréospécificité   |                   | X     |    |
| Les facteurs de transcription                      | Exemples de motifs d'interaction<br><i>On illustre ici la reconnaissance d'une séquence nucléique par une protéine ; la régulation de la transcription est détaillée dans le module 1</i> |                   | X     |    |

**Initiation à la biologie moléculaire et au génie génétique**

Sensibilisation à l'environnement de travail et aux exigences spécifiques à la pratique de la biologie moléculaire

| Objectifs de formation et supports théoriques   | Compétences transversales et technologiques   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensibilité des acides nucléiques aux hydrolases.</li> <li>- Aspect ubiquitaire des acides nucléiques et des hydrolases.</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identifier les points critiques d'un pipetage de micro volumes.</li> <li>- S'assurer de la qualité du matériel de prélèvement.</li> <li>- Conditionner, étiqueter et conserver (congélation ou non) les échantillons, les réactifs, etc.</li> <li>- Analyser les risques d'altération du matériel biologique, soit par contamination (ADN exogène), soit par dégradation (nucléases).</li> <li>- Prendre des mesures adéquates de protection du matériel biologique.</li> </ul> <p><b>Pour identifier les points critiques d'un pipetage, on pourra, par exemple, vérifier le fonctionnement mécanique d'une pipette, contrôler visuellement le volume et être amené à consulter la fiche de vie de la micro pipette.</b></p>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Structures monocaténaire et bicaténaire des acides nucléiques.</li> <li>- Étude des propriétés physicochimiques de l'ADN et de l'ARN :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. propriétés spectrales,</li> <li>. stabilité thermique et températures de fusion, effet hyperchrome,</li> <li>. solubilité en fonction des conditions de pH et de force ionique et de la nature du solvant,</li> <li>. hydrolyse non spécifique (enzymatique ou chimique) de l'ADN et de l'ARN.</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Cette partie sera traitée en liaison avec l'enseignement de CBSV et s'appuiera sur les activités pratiques de purification et dosage de l'ADN.</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Extraire et purifier l'ADN :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. analyser un protocole d'extraction et de purification d'ADN,</li> <li>. réaliser une extraction et une purification d'ADN,</li> <li>. contrôler la pureté de la solution d'ADN préparée par la réalisation d'un spectre d'absorption dans l'UV,</li> <li>. doser l'ADN par absorptiométrie à 260 nm.</li> </ul> </li> </ul> <p><b>L'ADN à purifier et quantifier pourra être d'origine génomique ou plasmidique. On privilégiera les protocoles permettant de mettre en évidence l'intérêt technologique des différentes étapes (lyse cellulaire, déprotéinisation, élimination de l'ARN et concentration après précipitation). On choisira de préférence les techniques douces sans utilisation de solvants organiques.</b></p> |

Du gène à la protéine

| Objectifs de formation et supports théoriques  | Compétences transversales et technologiques   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Code génétique et traduction de séquence nucléotidique.</li> <li>- Notion d'opéron et de séquence codante, notion de cadre de lecture.</li> <li>- Rôle du promoteur inductible.</li> <li>- Comparaison de la transcription et de la traduction chez les organismes procaryotes et eucaryotes :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. notions d'intron/exon et ADN, complémentaire,</li> <li>. queue polyA des ARNm eucaryotes.</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Les propriétés des molécules « informatives » et les notions nécessaires pour comprendre les stratégies fondamentales du génie génétique seront envisagées. On différenciera les propriétés nécessaires et/ou spécifiques aux procaryotes et aux eucaryotes.</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analyser statistiquement des séquences nucléotidiques et peptidiques (GC %, % acides aminés aliphatiques, etc.).</li> <li>- Rechercher et exploiter des informations dans des banques de données (sites de coupure des enzymes de restriction, séquence codante d'un gène, etc.).</li> <li>- Traduire à l'aide d'un logiciel une séquence de nucléotides et déterminer la séquence peptidique probable avec une banque de protéines.</li> </ul> <p><b>Les manipulations technologiques feront appel à l'outil bio-informatique. L'utilisation des logiciels libres de bio-informatique est recommandée pour mettre en œuvre ces différentes analyses sur des exemples simples et connus.</b></p> |

Outils essentiels de la biologie moléculaire

| Objectifs de formation et supports théoriques  | Compétences transversales et technologiques   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Enzymes : polymérases, enzymes de restriction.</li> <li>- Polymérisation des acides nucléiques et amplification en chaîne par polymérisation (ACP ou PCR).</li> <li>- Vecteurs d'amplification et d'expression :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. marqueur de sélection,</li> <li>. origine de répllication,</li> <li>. promoteur,</li> <li>. site de clonage multiple,</li> <li>. gène rapporteur,</li> <li>. gène d'intérêt.</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Seules les notions nécessaires à la compréhension de la technique d'amplification de l'ADN seront abordées (ADN matrice, amorces, enzymes, nucléotides). Le lien avec le cours sur la répllication étudié en CBSV sera effectué.</b></p> <p><b>Le rôle des deux types de vecteurs sera présenté par une comparaison des éléments constitutifs des deux types de vecteurs.</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Réaliser une électrophorèse en gel d'agarose.</li> <li>- Réaliser une digestion enzymatique par une enzyme de restriction :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. déterminer la taille de fragments de restriction par une digestion virtuelle à l'aide d'un logiciel de bio-informatique adapté,</li> <li>. mettre en œuvre le protocole expérimental,</li> <li>. analyser les résultats après électrophorèse ;</li> </ul> </li> <li>- Réaliser une amplification d'un fragment d'ADN                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. identifier le rôle des différentes molécules impliquées,</li> <li>. analyser les conditions opératoires,</li> <li>. mettre en œuvre une APC (PCR) et analyser les résultats.</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Le choix des enzymes de restriction adaptées à l'objectif recherché pourra être réalisé à l'occasion d'un projet. Les conditions de l'électrophorèse en gel d'agarose pourront être analysées lors du projet.</b></p> |

Quelques applications de la biologie moléculaire et du génie génétique

| Objectifs de formation et supports théoriques   | Compétences transversales et technologiques  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthodes d'identification moléculaire :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>. spectrométrie de masse, gènes de l'ARN 16S, profils de restriction, séquençage, PCR, etc.</li> </ul> </li> <li>- Clonage et OGM.</li> <li>- Séquençage des génomes.</li> <li>- Caractère génétique d'une maladie héréditaire et thérapie génique.</li> <li>- Identification des organismes et individus : médecine légale, contrôle alimentaire et vétérinaire, phylogénie, etc.</li> </ul> <p><b>Il s'agira de sensibiliser les élèves à la diversité des applications de la biologie moléculaire et du génie génétique ainsi qu'à leurs limites actuelles, sans pour autant entrer dans le détail des technologies utilisées.</b></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Exploiter des documents pour appréhender les limites, l'intérêt et le contexte d'utilisation de différentes méthodes.</li> </ul> <p><b>Les compétences techniques peuvent être acquises de manière indépendante ou intégrées dans une démarche de projet comme la réalisation et l'exploitation d'un marqueur de taille ou encore le clonage d'un insert.</b></p> |

Extraits du référentiel de Terminale STL, enseignement de CBSV

**Thème 4 - Les systèmes vivants contiennent, échangent et utilisent de l'information génétique**

La variété phénotypique des systèmes vivants est déterminée à différentes échelles par la diversité des informations portées par l'ADN, par leurs transmissions lors des phases de répllication ou lors de la reproduction sexuée. Cette dernière permet le brassage génétique qui confère à chaque individu une identité propre.

4.6 L'ADN est un objet des biotechnologies

| Connaissances   | Capacités   |
|---|---|
| L'analyse de l'ADN permet d'identifier un individu et d'établir sa filiation.   | Exploiter des ressources documentaires pour : <ul style="list-style-type: none"> <li>- déterminer le pourcentage de similitude entre deux individus ;</li> <li>- comparer des empreintes génétiques.</li> </ul>   |
| Le patrimoine génétique d'un organisme peut être modifié afin de conférer à cet organisme de nouvelles potentialités. | Exploiter des ressources documentaires pour : <ul style="list-style-type: none"> <li>- identifier des domaines de production faisant intervenir des organismes génétiquement modifiés ;</li> <li>- identifier la potentialité recherchée par une modification génétique et les éventuels risques associés.</li> </ul> |
| Des recherches en thérapie génique explorent des pistes pour soigner les maladies génétiques.                         | Exploiter des ressources documentaires pour : <ul style="list-style-type: none"> <li>- expliquer la stratégie mise en œuvre dans une thérapie génique ;</li> <li>- distinguer, pour une thérapie génique donnée, ce qui est en cours de réalisation de ce qui est prospectif.</li> </ul>                              |