

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

BIOTECHNOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 6

SCIENCES BIOLOGIQUES
FONDAMENTALES ET GÉNIE BIOLOGIQUE

Le sujet comporte 6 pages numérotées de 1/6 à 6/6

L'usage de la calculatrice est interdit

LE DIOXYGÈNE

1. Diffusion du dioxygène (38 points)

Le dioxygène est un gaz nécessaire à la vie aérobie des cellules. À ce titre, sa diffusion dans les milieux et les membranes biologiques est essentielle.

1.1. Membrane plasmique et diffusion

La membrane plasmique des cellules est une structure supramoléculaire complexe qui délimite les cellules vivantes. Sa structure a été modélisée en 1972 sous forme d'une mosaïque fluide par Singer et Nicholson.

- 1.1.1. Représenter par un schéma légendé la structure de la membrane plasmique eucaryote.
- 1.1.2. Justifier le terme de « mosaïque fluide ».
- 1.1.3. Le dioxygène sous forme dissoute traverse la membrane par diffusion simple. De nombreux autres solutés utilisent un mécanisme de diffusion facilitée par un transporteur.
 - 1.1.3.1. Exposer les caractéristiques de la diffusion simple et de la diffusion facilitée.
 - 1.1.3.2. Tracer sur un graphe l'évolution de la vitesse de transport en fonction de la concentration en soluté :
 - dans le cas d'une diffusion simple ;
 - dans le cas d'une diffusion facilitée par un transporteur.
- 1.1.4. Présenter les autres types de transports membranaires possibles. Illustrer chacun d'eux par un exemple.

1.2. Diffusion du dioxygène en bioréacteur

Le dioxygène est un facteur limitant de la croissance des organismes aérobies en culture.

- 1.2.1. Quels sont les problèmes posés par le dioxygène en génie fermentaire ?
- 1.2.2. Schématiser le parcours d'une molécule de dioxygène du milieu de culture vers son site d'utilisation cellulaire en précisant les étapes limitantes de la diffusion.
- 1.2.3. Définir le $K_L a$ d'un bioréacteur et proposer une méthode permettant sa détermination.
- 1.2.4. Indiquer trois paramètres permettant d'améliorer l'oxygénation d'un milieu en bioréacteur.

2. Métabolismes oxydatifs (41 points)

2.1. Diversités des métabolismes

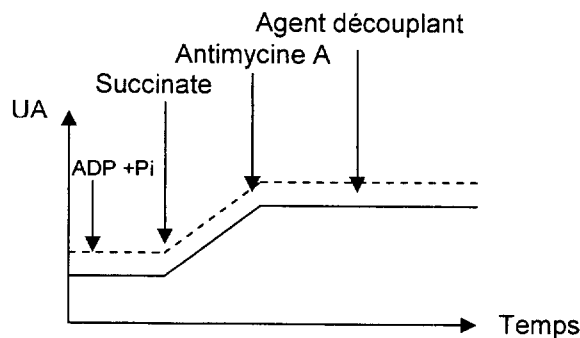
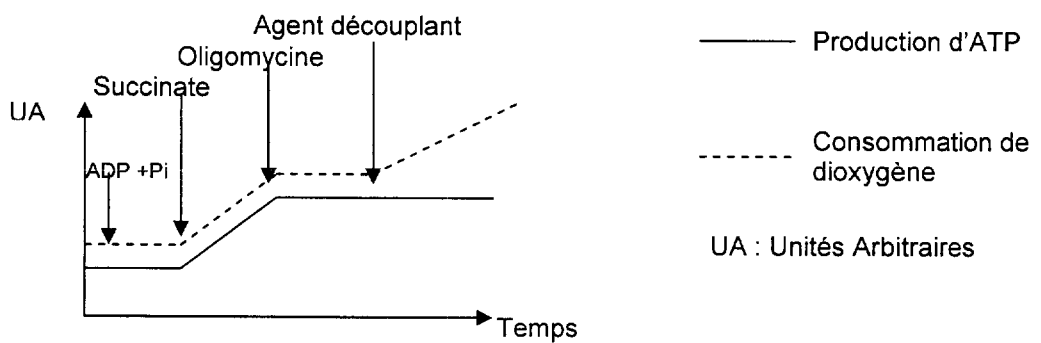
- 2.1.1. Présenter les différents types énergétiques rencontrés chez les microorganismes en distinguant la source d'énergie et la source d'électrons.
- 2.1.2. Citer et définir les différents comportements vis-à-vis du dioxygène qui peuvent être rencontrés chez les microorganismes.

2.2. Fonctionnement de la chaîne respiratoire

- 2.2.1. Dans les cellules eucaryotes l'énergie chimique issue de l'oxydation des nutriments est convertie en ATP grâce à la chaîne respiratoire.
 - Présenter un schéma de cette chaîne respiratoire.
 - Préciser sa localisation dans la cellule.
- 2.2.2. Expliquer le couplage entre le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire et la synthèse d'ATP.
- 2.2.3. L'antimycine A et l'oligomycine sont deux antibiotiques agissant par inhibition de la phosphorylation oxydative.

Pour préciser la cible d'action de ces deux antibiotiques (chaîne respiratoire ou ATPase), l'expérience suivante est réalisée :

Une suspension de mitochondries est réalisée en eau physiologique. La consommation du dioxygène et la formation d'ATP sont suivies après l'ajout de divers additifs.



- 2.2.3.1. Commenter les courbes obtenues et préciser la cible des deux antibiotiques en justifiant la réponse.
- 2.2.3.2. Citer quatre autres cibles potentielles des antibiotiques.

2.3. Métabolisme associé à la respiration

La succinate déshydrogénase catalyse la réaction suivante :



Le malonate ($^- \text{OOC-CH}_2\text{-COO}^-$) exerce un effet inhibiteur sur cette enzyme.

- 2.3.1. Expliquer l'effet inhibiteur du malonate sur la succinate déshydrogénase.
- 2.3.2. Nommer ce type d'inhibition.
- 2.3.3. Représenter sur le même graphique $V_i = f([\text{succinate}])$ en absence et en présence de malonate.
- 2.3.4. Indiquer sur ce graphique les constantes michaeliennes dans les deux cas.
- 2.3.5. Proposer une solution simple pour obtenir une activité succinate déshydrogénase satisfaisante en présence de malonate.

3. Les organismes producteurs de dioxygène (41 points)

3.1. Les organismes procaryotes producteurs de dioxygène

- 3.1.1. Il existe deux types de photosynthèse chez les bactéries : la photosynthèse en milieu aérobie et la photosynthèse en milieu anaérobie.
Donner un exemple de groupe bactérien représentant chacun de ces cas.
- 3.1.2. Certaines bactéries sont des procaryotes phototrophes et fixateurs d'azote.
 - 3.1.2.1. Nommer l'enzyme permettant la fixation du diazote atmosphérique.
 - 3.1.2.2. Préciser la condition physicochimique permettant l'activité de cette enzyme.

3.2. Les organismes eucaryotes producteurs de dioxygène

Les organismes eucaryotes producteurs de dioxygène sont les végétaux et les algues.

- 3.2.1. Représenter par un schéma légendé l'ultrastructure d'une cellule végétale type.
- 3.2.2. La production de dioxygène chez les eucaryotes a lieu au niveau d'organites spécialisés.
 - Nommer les trois organites représentés dans l'**annexe 1**.
 - Indiquer celui qui est responsable de la production de dioxygène.
 - Présenter le rôle des deux autres organites.

3.2.3. Deux de ces trois organites sont dits « semi-autonomes ». Ils seraient issus d'une symbiose ancestrale avec des cellules procaryotes (théorie endo-symbiotique de Margulis).

- Justifier l'appellation « organites semi-autonomes ».
- Présenter un autre argument en faveur de cette théorie.

3.2.4. Les photosystèmes sont responsables de la photosynthèse :

- Préciser la localisation de ces photosystèmes au sein des chloroplastes.
- Exposer l'intérêt métabolique des photosystèmes I et II.

3.3. Le cycle du dioxygène

Présenter sous forme de schéma le cycle du dioxygène, en mettant en évidence les organismes vivants qui y participent.

3.4. Modification génétique des plantes d'intérêt agro-alimentaire

Pour permettre aux végétaux des pays tempérés de s'adapter au stress oxydatif lié au réchauffement climatique, on envisage le transfert d'un gène responsable d'un métabolisme adapté aux climats tropicaux.

La transgénèse végétale peut être réalisée grâce au système suivant : une bactérie *Agrobacterium tumefaciens* possédant deux plasmides, un plasmide pTi (*tumor inducing plasmid*) d'*Agrobacterium tumefaciens* et un plasmide (pN) d'*Escherichia coli* modifié.

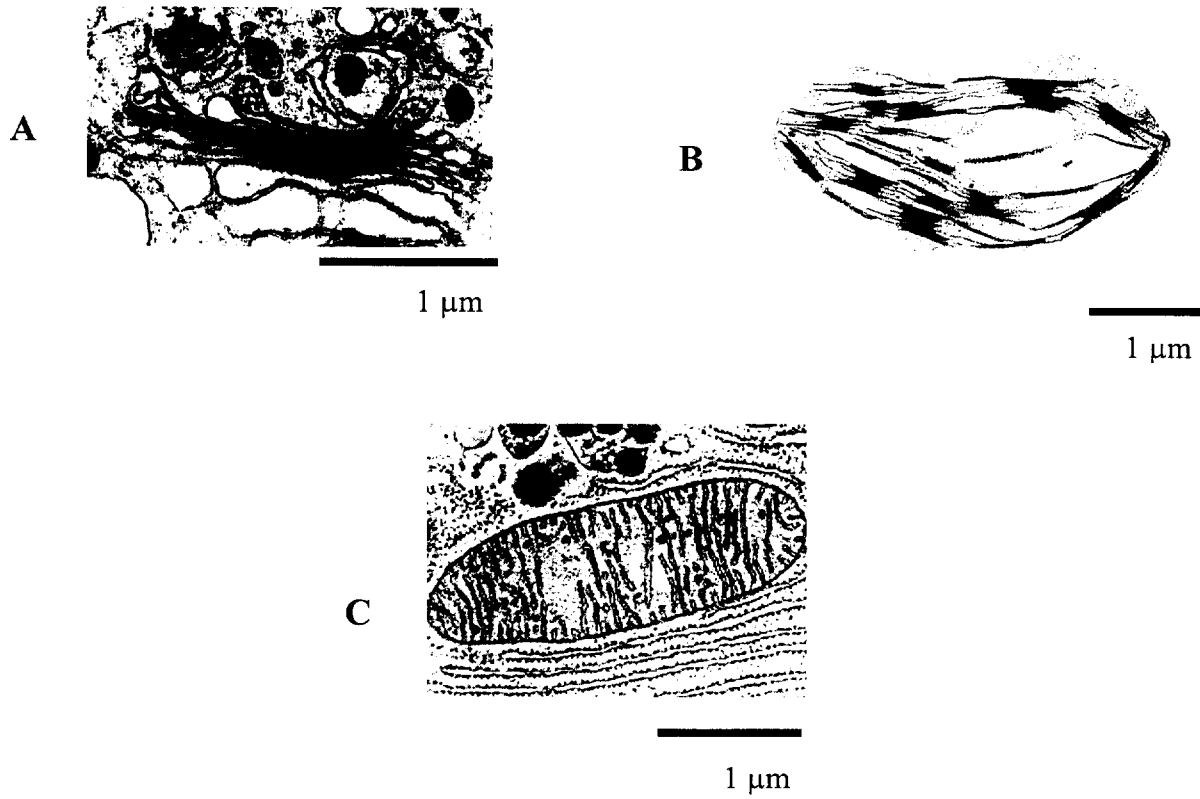
3.4.1. Comment s'appelle un tel système ?

3.4.2. Indiquer la fonction de chacune des séquences plasmidiques présentées sur l'**annexe 2**.

3.4.3. Schématiser la structure du gène d'intérêt et préciser les éléments qui permettent son expression dans la plante transfectée.

3.4.4. Citer deux autres méthodes de transfection utilisables chez les végétaux.

Annexe 1



Annexe 2

Agrobacterium tumefaciens

