

BREVET DE TECHNICIEN AGRICOLE
ÉPREUVE TERMINALE N° 2
CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES

Option : Transformation
Spécialité : Laboratoire d'analyses

Durée : 3 heures 30

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Rappel : Au cours de l'épreuve, la calculatrice est autorisée pour réaliser des opérations de calcul, ou bien élaborer une programmation, à partir des données fournies par le sujet.

Tout autre usage est interdit.

Les candidats traiteront chaque partie sur des feuilles séparées

Le sujet comporte 12 pages

PARTIE 1 : SCIENCES BIOLOGIQUES..... **10 points**

Annexes A et B

PARTIE 2 : CHIMIE-BIOCHIMIE..... **10 points**

Les annexes A et B sont à rendre avec la copie

SUJET

PARTIE 1 : SCIENCES BIOLOGIQUES

UN VACCIN CONTRE LA GASTRO-ENTERITE

1. Les gastro-entérites virales

Les gastro-entérites à *Rotavirus* touchent particulièrement les jeunes enfants des pays en voie de développement et sont responsables de diarrhées aiguës associées à une déshydratation sévère occasionnant de nombreux décès.

1.1. Légender le schéma de l'**annexe A** (à rendre avec la copie) décrivant la structure d'un virus.

1.2. Nommer et définir le mode de vie d'un virus.

Les diarrhées sont en partie le résultat d'une perturbation des échanges d'eau entre les cellules épithéliales et la lumière de l'intestin.

1.3. Titrer et légender le schéma de l'**annexe B** (à rendre avec la copie).

2. Les vaccins

2.1. A l'aide du **document 1**, présenter le principe de la vaccination.

2.2. Donner la définition d'un anticorps et préciser sa nature biochimique.

2.3. Indiquer le nom des cellules sécrétrices d'anticorps et préciser le nom des cellules dont elles dérivent.

2.4. Un fragment de gène (brin d'ADN transcrit), codant pour un anticorps est :

--- ATGGTGCACCTGGAA ---

2.4.1. Nommer et localiser les deux étapes qui interviennent lors de l'expression d'un gène.

2.4.2. A l'aide du **document 2**, déterminer la séquence peptidique codée par le fragment de gène ci-dessus, justifier la réponse.

3. Le document 3 présente la production d'un vaccin recombinant

3.1. A l'aide du document :

3.1.1. Indiquer les avantages du vaccin produit par les lapines transgéniques.

3.1.2. Nommer le gène d'intérêt utilisé dans ce procédé.

3.2. Définir le terme « organisme transgénique ».

4. L'immunologie au service du diagnostic

4.1. Le **document 4** présente un test ELISA indirect utilisé pour mettre en évidence une éventuelle contamination virale.

Indiquer le principe de base de ce test.

4.2. Préciser le résultat du test décrit dans ce document. Justifier la réponse.

4.3. Indiquer si ce test est applicable à la recherche de bactéries pathogènes dans les produits agroalimentaires. Justifier la réponse.

PARTIE 2 : CHIMIE-BIOCHIMIE

LES PROTEINES

1. La structure des protéines

L'albumine est une protéine qui résulte de l'enchaînement d'un grand nombre d'acides α -aminés.

1.1. Le **document 5** présente la liste des dix premiers acides α -aminés.

Donner la formule générale semi-développée d'un acide α -aminé.

Entourer et nommer les deux fonctions caractéristiques d'un acide α -aminé.

1.2. Dans la molécule d'albumine, on considère la portion constituée de la séquence Ser – Leu – Asp. En s'aidant du **document 5**, écrire l'équation de la réaction chimique qui aboutit à la formation de cette séquence.

Nommer la liaison caractéristique entre acides α -aminés. Entourer ces liaisons dans la séquence – Ser – Leu – Asp.

2. Dosage de l'albumine par la méthode du biuret

On se propose de déterminer la concentration massique en albumine d'une solution inconnue. Pour cela, on utilise la méthode du biuret, qui est une méthode générale de dosage des protéines.

L'ion Cu^{2+} contenu dans le réactif de Gornall forme avec l'albumine un complexe coloré dosé par spectrophotométrie d'absorption moléculaire.

On élabore dans un premier temps une gamme-étalon à partir d'une solution d'albumine de référence, puis on applique le même protocole à la solution de concentration inconnue.

2.1. A l'aide du **document 6**, déterminer la longueur d'onde à utiliser pour ce dosage. Justifier la réponse.

2.2. La gamme-étalon est réalisée à partir d'une solution d'albumine à $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, selon le protocole décrit dans le **document 7**.

Justifier l'attente de 30 minutes nécessaire avant la lecture.

2.3 Déterminer la masse (en mg) d'albumine correspondant au tube *g*. Justifier le calcul.

2.4. Tracer sur la feuille de papier millimétré (à rendre avec la copie) la courbe de l'absorbance *A* en fonction de la masse d'albumine par tube exprimée en mg : $A = f(m)$.

Échelles :

- Abscisses : $1 \text{ cm} \leftrightarrow 1 \text{ mg}$
- Ordonnées : $1 \text{ cm} \leftrightarrow 0,02$

2.5. L'échantillon à doser est préparé selon les indications du **document 7**.

Déterminer graphiquement la masse d'albumine (en mg) contenue dans le tube à essais *h*.

2.6. Calculer la concentration massique en albumine (en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) dans la solution inconnue.

3. Séparation de peptides par HPLC

On se propose d'analyser un mélange des protéines A et B par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Le schéma de principe de l'appareil utilisé est présenté dans le **document 8**.

3.1. Rappeler le principe général d'une chromatographie.

3.2. Préciser les rôles de la pompe et des éléments ①, ② et ③.

3.3. Le résultat de l'analyse du mélange de protéines par HPLC donne les chromatogrammes présentés dans le **document 9**.

3.3.1. Donner les valeurs des temps de rétention des protéines A et B.

3.3.2. Calculer les concentrations respectives de l'échantillon en protéines A et B.

Barème

SCIENCES BIOLOGIQUES

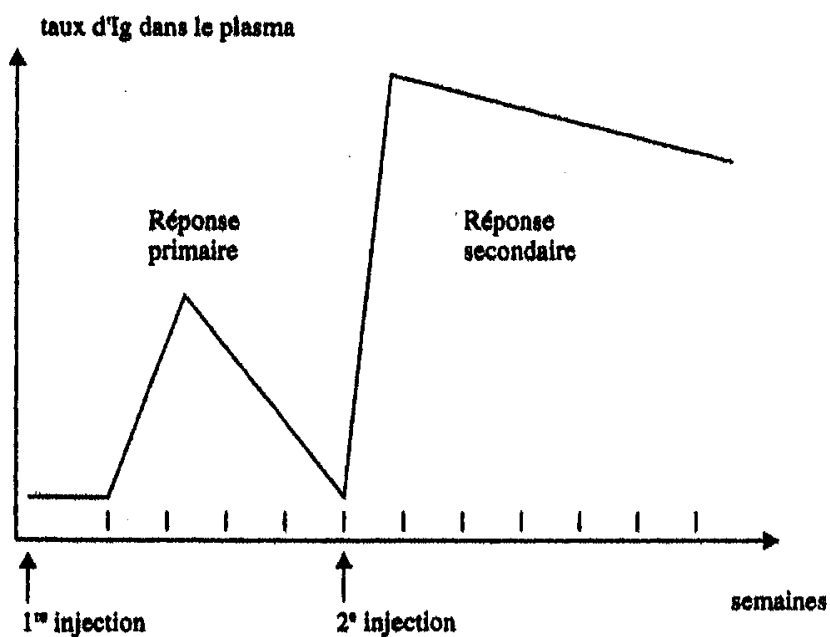
1-	3	2-	3,5	3-	1,75	4-	1,75
----	---	----	-----	----	------	----	------

CHIMIE-BIOCHIMIE

1-	1.1	0,75	2-	2.1	0,5	3-	3.1	1,25
	1.2	1,5		2.2	0,25		3.2	2
				2.3	0,5		3.3.1	0,5
				2.4	1		3.3.2	1
				2.5	0,25			
				2.6	0,5			

DOCUMENT 1

Extrait de l'ouvrage "Immunologie" (Presses Universitaires de France)



DOCUMENT 2

les codons de l'ARN_m et leurs significations

	U		C		A		G		
U	UUU	Phénylalanine (Phe)	UCU	Sérine (Ser)	UAU	Tyrosine (Tyr)	UGU	Cystéine (Cys)	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	Leucine (Leu)	UCA		UAA	non-sens	UGA	non-sens	A
	UUG		UCG		UAG		UGG	Tryptophane (trp)	G
C	CUU	Leucine (Leu)	CCU	Proline (Pro)	CAU	Histidine (His)	CGU	Arginine (Arg)	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	Glutamine (Glu)	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	Isoleucine (Ile)	ACU	Thréonine (Thr)	AAU	Asparagine (Asn)	AGU	Sérine (Ser)	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lysine (Lys)	AGA	Arginine (Arg)	A
	AUG	Méthionine (Met)	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Valine (Val)	GCU	Alanine (Ala)	GAU	Acide Aspartique (Asp)	GGU	Glycine (Gly)	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	Acide Glutamique (Glu)	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

Communiqué de presse. 01/12/2005

Un vaccin contre la gastroentérite produit dans du lait de lapines transgéniques

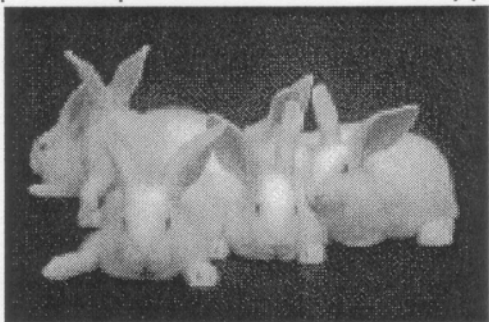


Des chercheurs de l'INRA et de la société BioProtein Technologies(1) ont mis au point un mode de production original pour un vaccin recombinant contre un virus responsable d'une grande partie des gastroentérites chez l'enfant, le rotavirus. Ce vaccin est produit par des lapines transgéniques, qui sécrètent les protéines recombinantes dans leur lait. Ce mode de production rapide et économique pourrait permettre, avec quelques centaines de lapines transgéniques, de produire plusieurs kilos de protéines recombinantes par an, nécessaires à la vaccination d'une grande partie des enfants à risque. Le détail de ces résultats est publié dans le dernier numéro de "Transgenic Research".

Le rotavirus est la principale cause des gastroentérites virales chez les jeunes enfants, et provoque 500 000 décès par an dans le monde, notamment dans les pays en développement. Un vaccin, préparé à partir du virus vivant atténué, était disponible mais a été retiré du marché il y a quelques années car il était associé à des risques d'invagination de l'intestin, dont on ignore la cause. Deux autres vaccins basés sur le même principe sont en cours d'essais cliniques mais ils peuvent présenter le même type de risque.

Les chercheurs de Bioprotein Technologies se sont donc orientés vers une piste différente déjà validée par des laboratoires de l'INRA qui consiste à développer un vaccin recombinant. En effet, ce type de vaccin est conçu non pas à partir du virus atténué, mais en séparant les protéines induisant la réponse immunitaire (antigènes) du reste du virus et n'utilisant que ces antigènes comme vaccin.

Ils ont choisi deux protéines virales de surface qui, co-exprimées, forment *in vitro* un complexe imitant la structure de la capsid du virus. Ce complexe protéique, qui est totalement dépourvu de pouvoir infectieux, s'est montré efficace sur différents modèles animaux pour immuniser contre le virus entier. Par contre, les moyens pour synthétiser ces protéines à grande échelle sont limités, coûtent très cher et ne sont pas compatibles avec un développement industriel.



(c) INRA/C.Slagmulder
virus.

Les chercheurs de BioProtein Technologies et de l'INRA, ont développé un animal transgénique capable de synthétiser ces protéines. En modifiant le génome de lapines, ils ont pu leur faire sécréter les protéines virales recombinantes dans leur lait. Ce procédé fait l'objet d'un brevet publié le 21 septembre 2005.

Les protéines ainsi produites ont été testées sur des modèles de souris. Après vaccination, les souris sont protégées contre l'infection par le

DOCUMENT 4

Extrait de l'ouvrage "Immunologie" (Presses Universitaires de France)

Test ELISA pour le dépistage du SIDA :

Mode opératoire

Étape 1

On ajoute le sérum à tester pouvant contenir des anticorps anti-virus



Étape 2

On ajoute des anticorps anti-anticorps viraux marqué par une enzyme



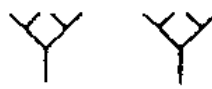
Étape 3

Lavage et ajout du substrat de l'enzyme

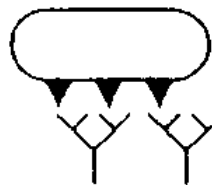


Plaque plastique avec antigènes viraux ▲

+



anticorps anti-virus

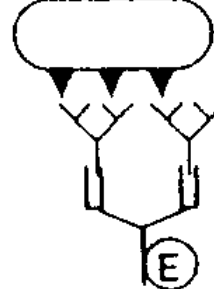


Fixation des anticorps

+



anticorps anti-anticorps viraux



anticorps anti-virus sont fixés

Le substrat subit l'action de l'enzyme et donne un produit coloré

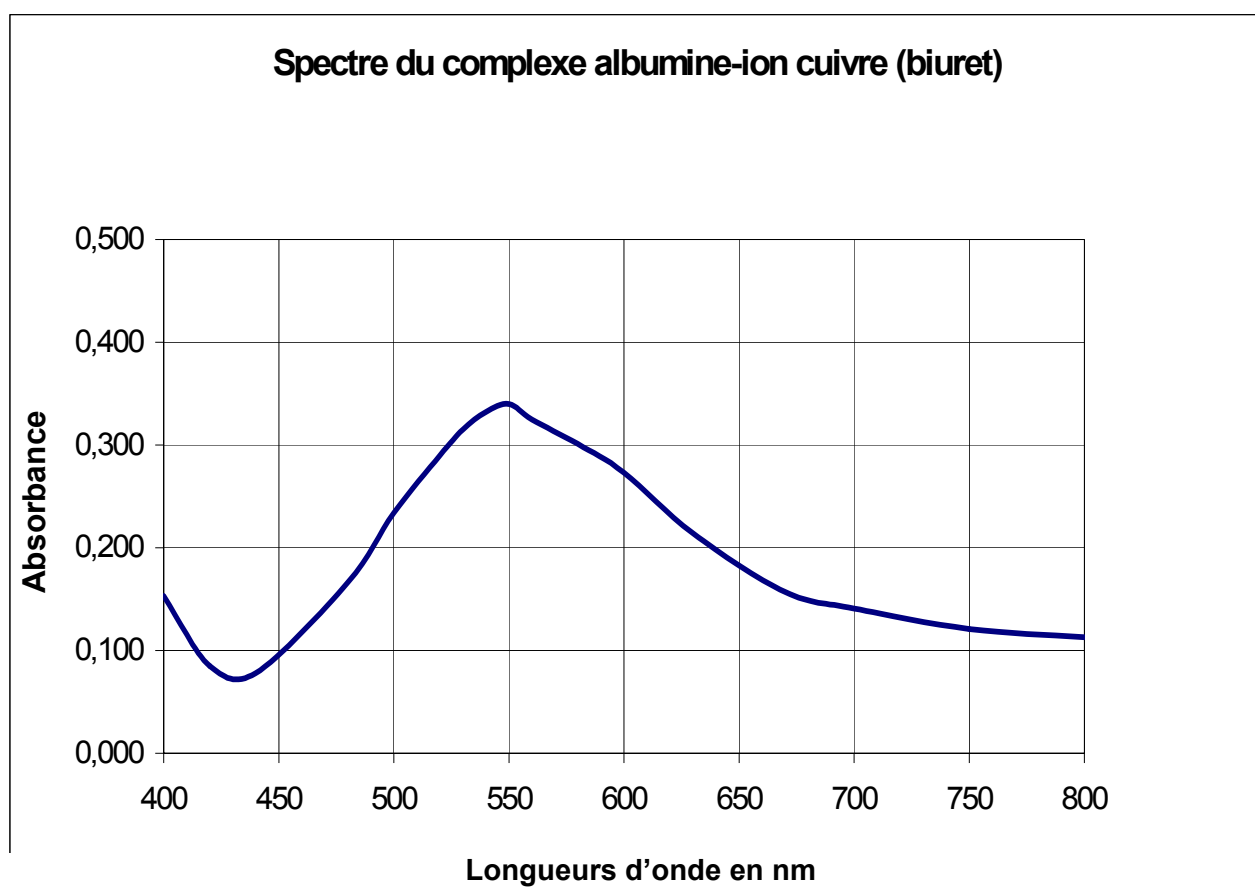
DOCUMENT 5

Liste des dix premiers α -acides aminés

Nom	Abrév.	Formule
Glycine	Gly	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Alanine	Ala	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Valine	Val	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Leucine	Leu	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Isoleucine	Ilu	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$

Nom	Abrév.	Formule
Sérine	Ser	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Thréonine	Thr	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CHOH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Cystéine	Cys	$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Méthionine	Met	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Acide aspartique	Asp	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

DOCUMENT 6



DOCUMENT 7

1) Résultats du dosage spectrophotométrique

Après agitation, chaque tube est laissé au repos pendant 30 min puis chaque solution est passée au spectrophotomètre.

Tube à essais	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>g</i>
Volume (μL) d'albumine 10 g·L ⁻¹	0	100	200	400	600	800	1000
Volume (μL) de sérum physiologique	1000	900	800	600	400	200	0
Volume (mL) de réactif de Gornall	4	4	4	4	4	4	4
Masse (mg) d'albumine par tube	0	1	2	4	6	8	
Absorbance A	0,000	0,035	0,064	0,124	0,184	0,243	0,296

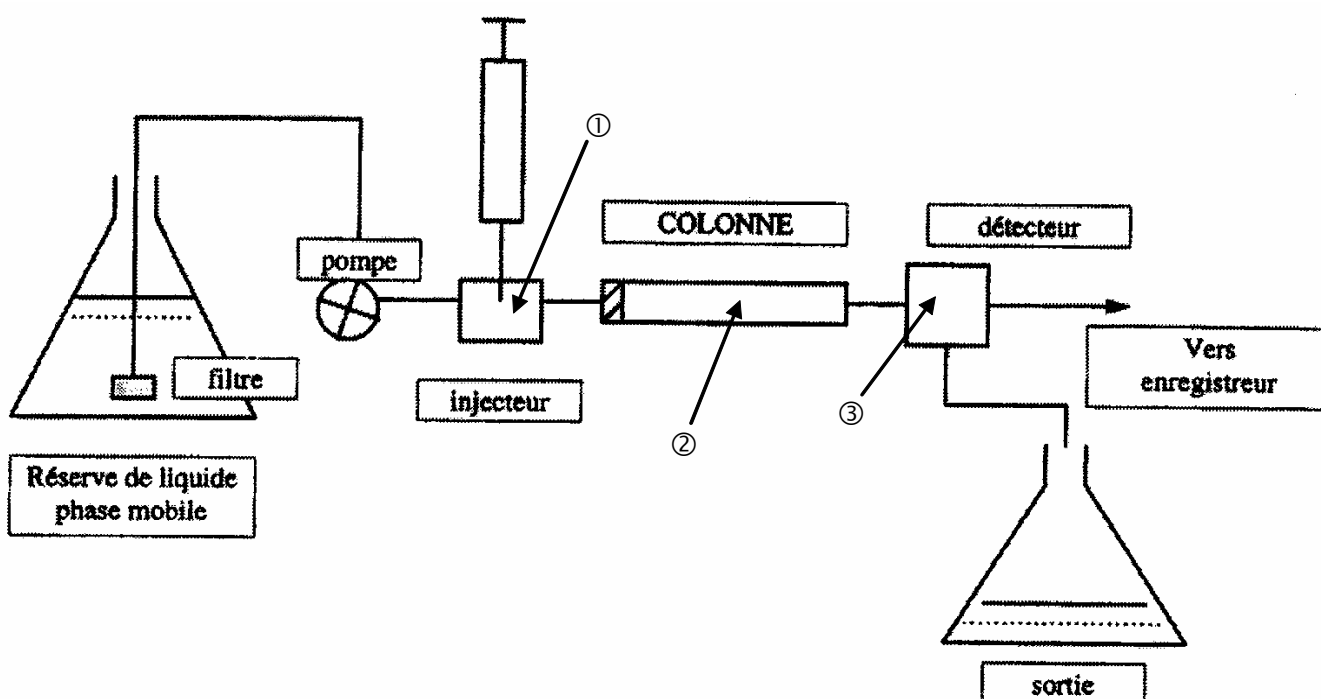
Rappel : 1 μL = 10⁻⁶ L

2) Préparation de l'échantillon

Tube à essais	<i>h</i>
Volume (μL) de solution inconnue	200
Volume (μL) de sérum physiologique	800
Volume (mL) de réactif de Gornall	4
Absorbance A	0,163

DOCUMENT 8

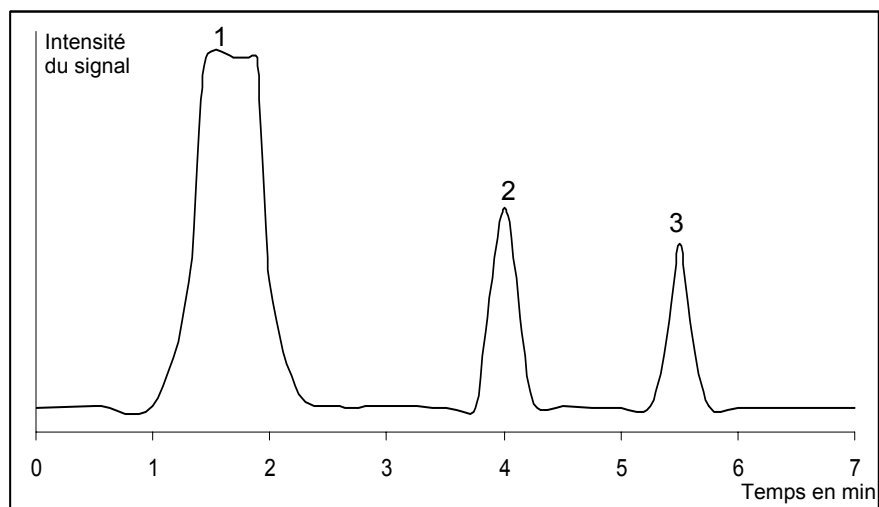
Schéma de principe d'un appareil HPLC



DOCUMENT 9

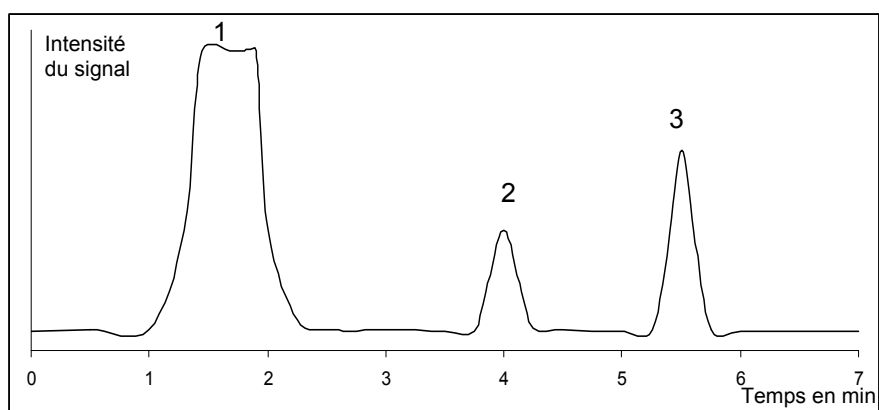
Chromatogramme d'une analyse HPLC de peptides

1) Chromatogramme obtenu avec une solution étalon d'un mélange des protéines A et B



Pic n°	concentration (g.L ⁻¹)	Aire (unité d'aire)
1 (solvant)		12680
2 (protéine A)	1,0	2500
3 (protéine B)	1,5	2030

2. Chromatogramme obtenu avec l'échantillon



Pic n°	concentration (g.L ⁻¹)	Aire (unité d'aire)
1 (solvant)		12680
2 (protéine A)		1203
3 (protéine B)		2307

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

MEX
Nom :
(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

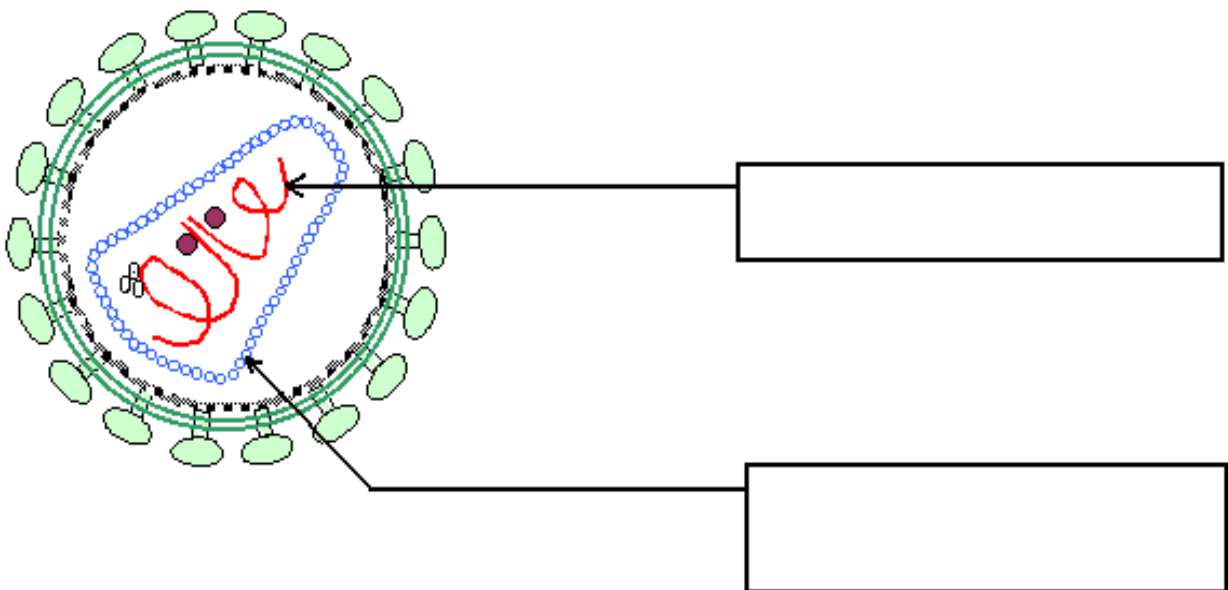
EXAMEN :
Spécialité ou Option :
EPREUVE :

Date de naissance : 19 Centre d'épreuve :
Date :

N° ne rien inscrire

ANNEXE A (à compléter et à rendre avec la copie)

N° ne rien inscrire



MINISTERE DE L'AGRICULTURE

MEX
Nom :
(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

EXAMEN :
Spécialité ou Option :
EPREUVE :

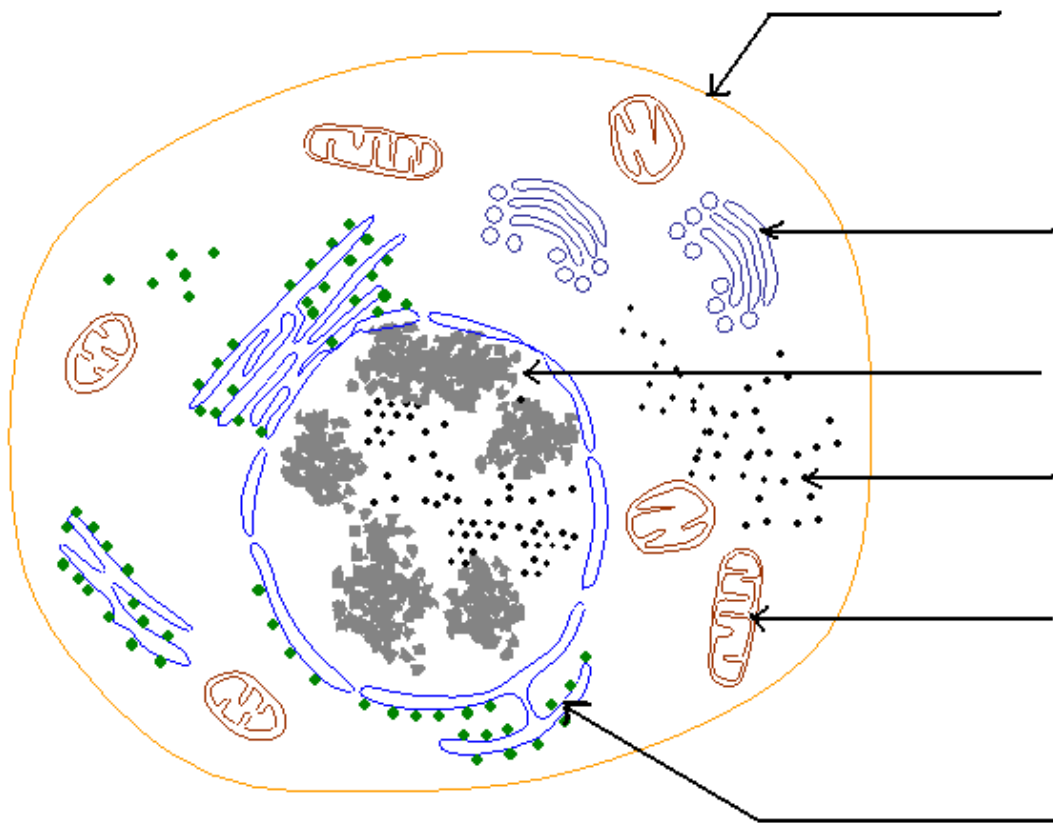
Date de naissance : 19 Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

ANNEXE B (à compléter et à rendre avec la copie)

N° ne rien inscrire



EXAMEN

Spécialité ou Option :

NOM :
(EN MAJUSCULES)

Prénoms :

ÉPREUVE :

Date de naissance :

Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

N° du sujet choisi (1)
ou repère de l'épreuve