Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U33

BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2017

_____

Durée : 2 heures

Coefficient : 3

_____

Calculatrice interdite

Matériel autorisé :

- Dictionnaire anglais-français.

L'expression écrite, le soin et la formulation des réponses (concision, qualité des schémas, des tableaux…) seront évalués à hauteur de 3 points sur 40.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 13 pages, numérotées de 1/13 à 13/13.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Études associées à la production d'un riz génétiquement modifié

Certaines plantes sont modifiées génétiquement afin de produire des insecticides biologiques. C'est le cas des plantes exprimant les toxines de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (ou toxines Bt) qui tuent la majorité des espèces d'insectes dont les nuisibles pour les récoltes comme les larves des papillons de l'espèce *Plutella xylostella*.

Des travaux ont démontré l'adaptation de certains insectes aux toxines « Bt » générant ainsi un phénomène de résistance. Dans l'optique d'éviter ce phénomène de résistance, des laboratoires ont mis au point des riz transgéniques produisant des toxines Bt mutées recombinantes (Bt_m).

Ces plantes OGM doivent faire l'objet de diverses études de toxicité, dont l'évaluation de leur immuno-toxicité.

L'étude présentée ici propose :

- d'évaluer l'efficacité insecticide de la toxine Bt_m sur les larves du papillon *Plutella xylostella,*
- d'étudier la production de plants de riz transgéniques exprimant cette toxine Bt_m,
- d'évaluer un aspect de l'immuno-toxicité de ces riz OGM.

1. Étude de l'efficacité insecticide de la toxine Bt_m (5 points)

L'étude de l'effet de la toxine Bt_m est réalisée sur des larves du papillon *Plutella xylostella*. Le protocole et les résultats sont présentés dans le **document 1**.

Q1 – Expliquer la détermination graphique d'une dose létale 50, DL_{50}.

Q2 – Analyser les résultats pour la souche sensible et la souche résistante de *P. xylostella*. **Conclure** sur l'efficacité de la toxine « Bt » modifiée.

2. Production et caractérisation du riz exprimant la toxine recombinante modifiée (21 points)

Les plants de riz recombinants sont modifiés par un vecteur d'expression de la toxine Bt_m. La transgenèse est effectuée par transfert direct de gènes au moyen d'un canon à ADN (biolistique).
Les étapes de la transgenèse sont résumées dans le **document 2**. Pour la toxine Bt_m, deux plasmides sont co-transférés dans les embryons de plant de riz :

- un plasmide contenant le gène de la toxine modifiée ;
- le plasmide pWRG1515 décrit dans le **document 3,** contenant un gène de sélection et un gène rapporteur.

La présence démontrée d'un des deux plasmides dans une cellule transformée permet de confirmer la présence des deux plasmides.

Base nationale des sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Q3 – Expliquer les notions de gène de sélection et de gène rapporteur en vous appuyant sur les données du **document 3.**

Le plasmide pWRG1515 est cloné par transformation d'*E. coli* puis extrait et purifié par la méthode de lyse alcaline. Le protocole de cette étape est présenté dans le **document 4**.

Q4 – Préciser le rôle de l'étape et des réactifs soulignés dans ce protocole.

Avant l'étape de biolistique, la qualité de l'ADN plasmidique purifié est vérifiée par analyse des fragments de restriction sur gel d'agarose. Les réactifs utilisés sont listés dans le **document 5**.

Q5 – Calculer les volumes de réactifs à utiliser pour préparer les deux mélanges réactionnels. **Présenter** les résultats dans un tableau de composition.

Le profil de restriction est analysé sur gel d'agarose à 1 %.

Q6 – À l'aide de l'analyse de la carte génétique du plasmide présenté **document 3**, **déterminer** le nombre et la taille des fragments obtenus pour chaque enzyme de restriction. **Proposer** un schéma annoté de l'électrophorégramme attendu.

Après ces vérifications,

- des cals embryogènes de 6 jours sont produits à partir de semences matures de riz sur milieu A de Murashige & Skoog ;
- ils sont ensuite bombardés avec des particules d'or recouvertes des plasmides contenant le gène de la toxine et pWRG1515, en utilisant un canon à ADN ;
- deux jours après, les cals sont transférés sur du milieu A de Murashige & Skoog neuf supplémenté avec de l'hygromycine B (50 $mg \cdot L^{-1}$) ;
- les plants sélectionnés sont enfin transférés sur le milieu B de Murashige & Skoog supplémenté avec de l'hygromycine B (50 $mg \cdot L^{-1}$).

La composition des milieux A et B de Murashige & Skoog utilisés est présentée dans le **document 6A**. Le **document 6B** exprime l'influence de l'équilibre auxine/cytokinine sur l'organogenèse végétale.

Q7 – Comparer au niveau de chaque catégorie moléculaire la composition des milieux A et B. **Confirmer** que la composition de chacun de ces milieux est adaptée à l'orientation du développement des vitroplants de riz transgéniques.

Une PCR est réalisée pour détecter la présence des transgènes toxiniques (gènes apportés par le second vecteur co-transféré) dans les feuilles de plants recombinants. Le principe utilisé pour l'amplification du gène bt_m ainsi que l'analyse des produits de réactions de PCR par électrophorèse sont présentés sur le **document 7**.

Q8 – Établir la liste des réactifs à utiliser pour réaliser cette PCR et **analyser** les résultats obtenus.

Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

3. Étude de l'effet immuno-toxique de la consommation du riz génétiquement modifié (11 points)

L'évaluation de l'immuno-toxicité globale d'une substance comprend un dosage des anticorps totaux, mais également des anticorps spécifiques. L'étude qui suit ne présente que les résultats concernant les anticorps spécifiques.

La lectine E du haricot rouge (ou érythroagglutinine de *Phaseolus vulgaris*, PHA-E) sert de contrôle positif. Elle est connue pour avoir des effets immunotoxiques chez les insectes et les mammifères.

On étudie :

- ✓ l'effet de la lectine PHA-E : les animaux sont nourris avec du riz contrôle (non OGM) et différentes concentrations de lectine PHA-E, pendant 28 jours ;
- ✓ l'effet de la toxine Bt_m : les animaux sont nourris avec du riz contrôle (non OGM) ou du riz génétiquement modifié produisant la toxine Bt_m, ou du riz contrôle supplémenté avec 0,1 % de toxine Bt_m, pendant 28 jours.

Après 28 jours, les animaux sont sacrifiés. Les sérums sont récupérés et analysés par la technique ELISA présentée dans le **document 8**.

Q9 – Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans le cas de la recherche d'anticorps dirigés contre la lectine PHA-E pour un puits donnant un résultat positif.

Q10 – Présenter la composition des témoins positif et négatif.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **document 9**.

Q11 – Analyser les résultats et **conclure** sur l'effet immunostimulant de la toxine Bt_m.

Q12 – Discuter l'intérêt que présenterait la réalisation du dosage de la toxine Bt_m dans le riz OGM utilisé dans cette étude.

.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 1 : Étude de l'effet des toxines Bt et Bt_m

(Adapté de Tabashnick et al, Nature Biotechnology, 2011)

Protocole

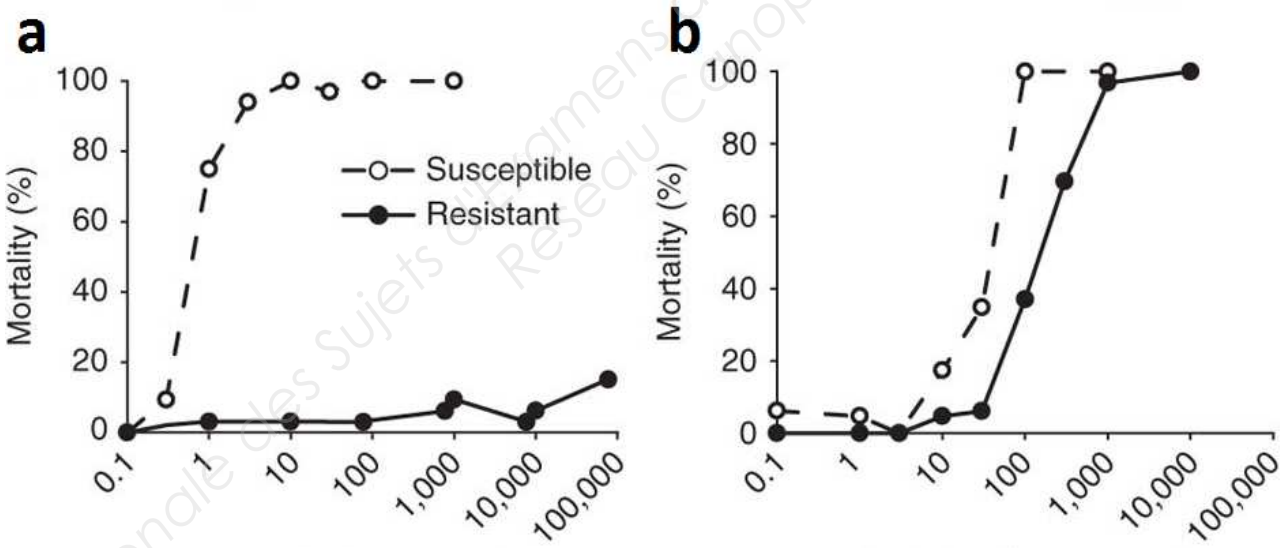
On travaille avec deux souches de *P. xylostella*, une souche sensible à la toxine Bt native (S) et une souche résistante à la toxine Bt (R).

- ✓ Les larves de chaque souche sont cultivées dans des plaques multi-puits. On dispose une larve par puits et on dépose 50 µL de solution de toxine dans de l'eau contenant du triton X-100 à 0,005 %.
- ✓ On mesure le taux de mortalité des larves après 6 jours d'incubation à 27 °C.
- ✓ On teste ainsi les deux souches de *P. xylostella* (S et R) avec les 2 toxines Bt et Bt_m

Remarque : le nombre de larves utilisées par expérience varie de 384 à 816.

Résultats

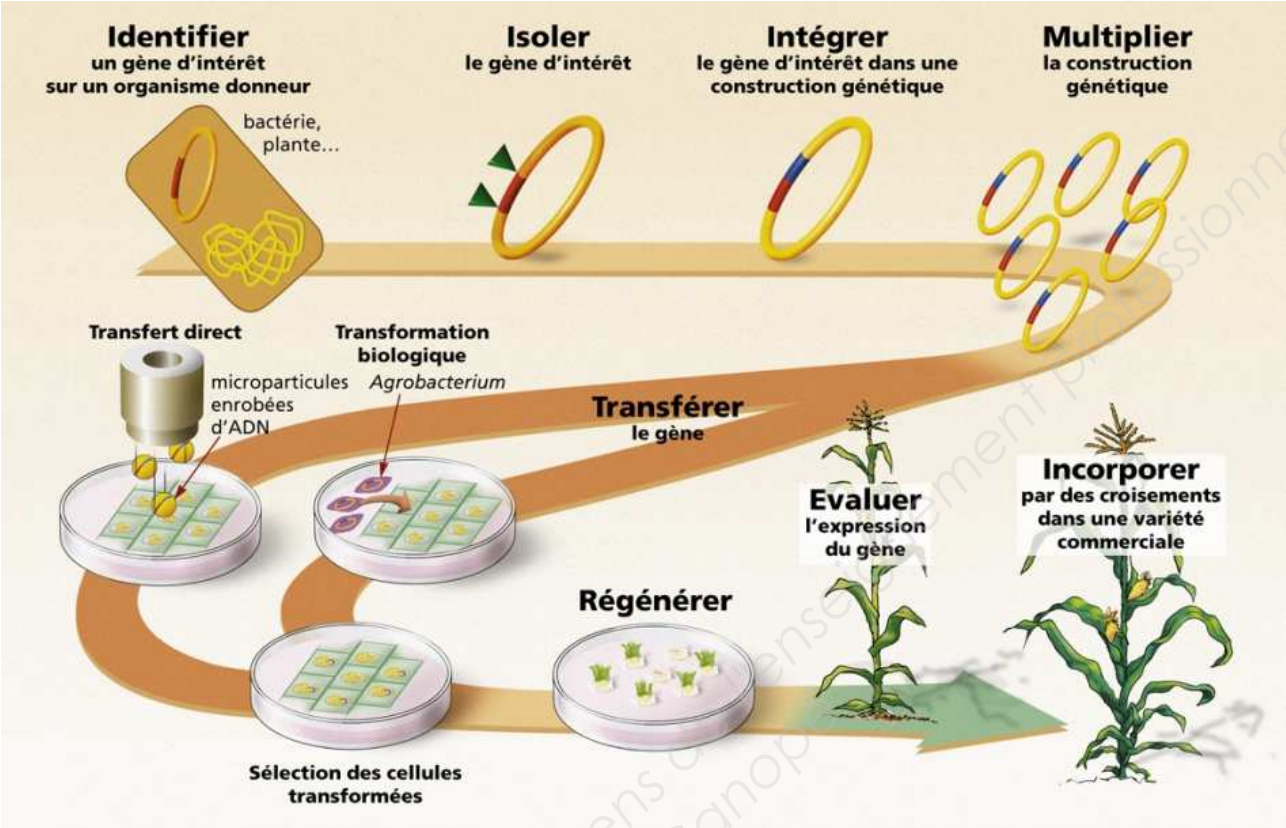
Taux de mortalité des souches sensibles (*susceptible*) et résistantes de *P. xylostella* aux toxines Bt natives et modifiées



Bt (ng per well) Bt_m (ng per well)

Base Nationale des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 2 : Les étapes de la transgénèse



D'après le *GNIS* (Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants)

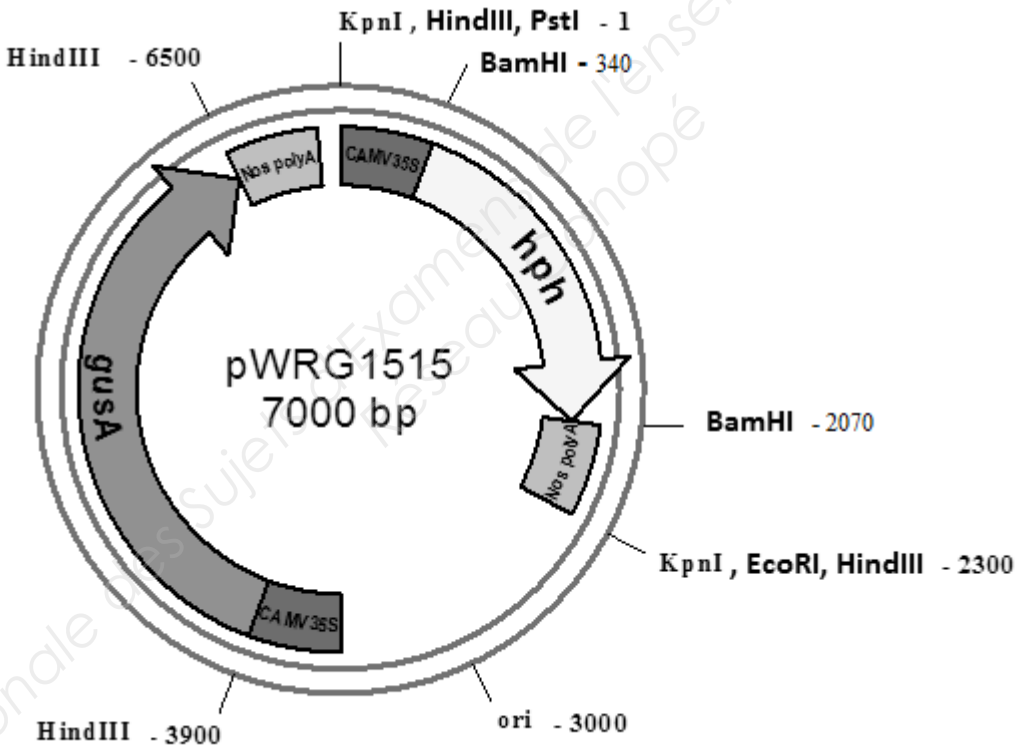
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 3 : Carte génétique du plasmide pWRG1515

Le plasmide utilisé (**pWRG1515**) contient les gènes codant pour l'hygromycine B phosphotransférase (*hph*) et la béta-glucuronidase (*gusA*) sous le contrôle du promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV35S).

L'hygromycine B est un antibiotique aminoside qui cible aussi bien les bactéries que les cellules eucaryotes et entraine la mort des cellules en inhibant la biosynthèse des protéines. L'enzyme Hph (hygromycine B phosphotransférase) codée par le gène *hph* induit la phosphorylation de l'hygromycine B qui perd alors tout effet biologique.

Le gène *gusA*, isolé d'*Escherichia coli*, code pour l'enzyme de la béta-glucuronidase qui catalyse l'hydrolyse de certains glucuronides. Cette enzyme, en présence du substrat X-Gluc (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-béta-D-glucuronide) conduit à l'apparition d'un précipité insoluble de couleur bleue.

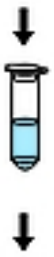


Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 4 : Purification de plasmides par lyse alcaline

Extrait de la fiche technique GenElute™ Plasmid Miniprep Kit

Bacterial Culture



1 Prepare cleared lysate. Pellet and resuspend cells. Alkaline lyse. Neutralize.

• Pellet cells from 1–5 mL overnight culture 1 minute. Discard supernatant.
• Resuspend cells in 200 µL Resuspension Solution (50 mM Tris-Cl, pH 8,0, 10 mM EDTA, 100 µg.mL^{-1} Rnase A). Pipette up and down or vortex.
• Add 200 µl of **Solution L (200 mM NaOH, 1 % SDS)**. Invert gently to mix. Do not vortex. Allow to clear for 5 minutes
• Add 350 µL of Neutralization Solution (3,0 .acétate de potassium, pH 5,5) Invert 4–6 times to mix.
• Pellet debris 10 minutes at max speed.



2 Prepare binding column

• Add 500 mL Column Preparation Solution to binding column in a collection tube.
• Spin at ≥12,000 x g, 1 minute. Discard flow-through.



3 Bind plasmid DNA to column

• Transfer cleared lysate into binding column.
• Spin 30”,1 minute. Discard flow-through.



4 Wash to remove contaminants

• Add 750 µl **Solution W (Ethanol 95%)** to column. Spin 30”, 1 minute. Discard flow-through.
• Spin 1 minute to dry column.



5 Elute purified plasmid DNA

• Transfer column to new collection tube.
• Add 100 µl Elution Solution. Spin 1 minute.

Pur Plasmid DNA

Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 5 : Hydrolyse d'ADN par endonucléases de restriction

Réactifs

- Solution d'ADN du plasmide pWRG1515 à 25 ng·µL^{-1}
- Solutions d'enzymes de restriction : Hind III à 10 U·µL^{-1} et KpnI à 4 U·µL^{-1}
- Tampons d'hydrolyse 10X pour Hind III et KpnI
- Eau qualité biologie moléculaire

Protocole

1. Le tableau ci-dessous présente les 2 hydrolyses à réaliser, avec quantité ou concentration voulues dans le mélange réactionnel.

n° tube	Enzyme	Quantité d'ADN	Quantité d'enzyme	concentration finale du tampon	Volume total du mélange réactionnel
1	Hind III	100 ng	10 U	tampon Hind III: 1X	20 µL
2	KpnI	200 ng	10 U	tampon KpnI : 1X	20 µL

2. Réaliser les mélanges réactionnels dans des microtubes et incuber 1 heure à 37°C.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N° 6

Document 6A : Composition des milieux de multiplication et d'enracinement (d'après Murashige & Skoog)

MILIEU mg/l	A	B
Macro éléments		
KNO3	1900	950
NH4NO3	1650	825
MgSO4, 7 H2O	370	185
CaCl2, 2H2O	440	220
KH2PO4	170	85
Micro éléments		
Mn SO4 4H2O	22,3	11,15
ZnSO4, 7H2O	8,6	4,3
H3BO3	6,2	3,1
KI	0,83	0,415
Na2MoO4, 2H2O	0,25	0,125
CuSO4, 5H2O	0,025	0,0125
CoCl2, 6H2O	0,025	0,0125
FeNa EDTA	36,7	18,4
Vitamines		
méso-inositol	100	100
pyridoxine (HCl)	0,5	0,5
acide nicotinique	0,5	0,5
thiamine (HCl)	0,5	0,5
pantothénate de calcium	0,5	0,5
biotine	0,01	0,01
Saccharose	20000	20000
gélose	8000	8000
pH	5,7	5,7
AIA	0,2	0,01
BA	0,2	-

A : milieu de multiplication
B : milieu d'enracinement

Document 6B : Influence de l'équilibre auxine/cytokinine sur l'organogenèse

	Formation de tige feuillée	Formation d'un cal	Formation de racines
[AIA] µg.mL^{-1}	0,01	0,2	0,01
[BA] µg.mL^{-1}	1	0,2	-

AIA : Acide indole 3-acétique (auxine de synthèse)
BA : Benzyladénine (cytokinine de synthèse)

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N°7 : PCR analysis of putative transgenic plants

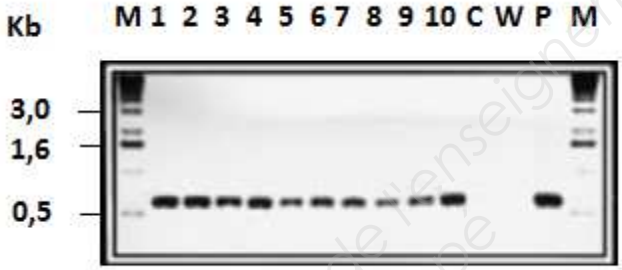
Protocol

DNA samples from putative transgenic rice plants were extracted from leaf tissue. PCR analysis was carried out using the following primers (5' primer : 5'-GACATCCTCAGGGAGACC-3'; 3' primer : 5'-ACCTGGAAGAGGGAGTAGAG-3'). These primers amplify a 600 bp fragment from the bt_m gene. PCR conditions were as follows :

- **95 °C** for 7 min, **54 °C** for 1 min, and **72 °C** for 1 min (one cycle)
- followed by **95 °C** for 1 min, **54°C** for 1 min and **72 °C** for 1 min (30 cycles).
- The final cycle was carried out at **72 °C** for 7 min.

Results

A 10 μL aliquot from each reaction was used for electrophoresis on 1% agarose gel.



PCR amplification of bt_m in transgenic rice

Lanes 1-10 : amplified DNA from plants 1-10; **M :** 1kb ladder; **C :** negative control (wild type plant); **W :** water control (no DNA); **P:** amplified bt_m DNA

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT N°8 : Dosage des anticorps spécifiques de la lectine PHA-E ou de la toxine Bt par la technique ELISA

(adapté de Kroghsbo et al, Toxicology, 2008)

PHA-E-specific antibody response

1. For detection of PHA-E-specific IgM, IgG1, plates (96-well,MaxiSorp, Nunc) were coated for 3–4 days at 4°C with 1 µg.mL^{-1} of purified recombinant PHA-E lectin in carbonate buffer.
2. Plates were washed five times with phosphate-buffered saline (PBS, 0.01 M, pH 7.4), containing 0.05% Tween 20 (Sigma, St. Louis, MO) prior to each subsequent step, using an automatic plate washer (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT).
3. Plates were blocked for 1 H at 37°C with blocking solution (containing casein)
4. Then plates were incubated with serial dilutions of rat sera (starting at 1:4) for 1 H at room temperature.
5. Plates were then incubated with HRP-labeled mouse anti-rat IgG1 (1:2000; Zymed) or goat anti-rat IgM (0.5 µg.mL^{-1}, Bethyl Laboratories) antibodies for 1 H at room temperature.
6. Plates were developed with 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)-one substrate (Kem-En-Tec, Copenhagen, Denmark) for 10 min in the dark, and the reaction terminated with 0.2M sulphuric acid and read at 450 nm, using a microtiter plate reader (Bio-Tek Instruments).

- Positive and negative controls were realised in each plate.
- The antibody titers were expressed as $\log_2$ titers and defined as the interpolated dilution (three-parameter analysis, kineticalc software, Version 2.7) of a serum sample leading to an absorbance of 0.2 (IgG1) or 0.4 (IgM).

Bt_m-specific antibody response

Le protocole est le même à l'exception de la première étape où la lectine PHA-E est remplacée par 1 µg.mL^{-1} de toxine Bt_m recombinante purifiée placée dans du tampon carbonate.

Base Nationale des Sujets Nouveaux de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

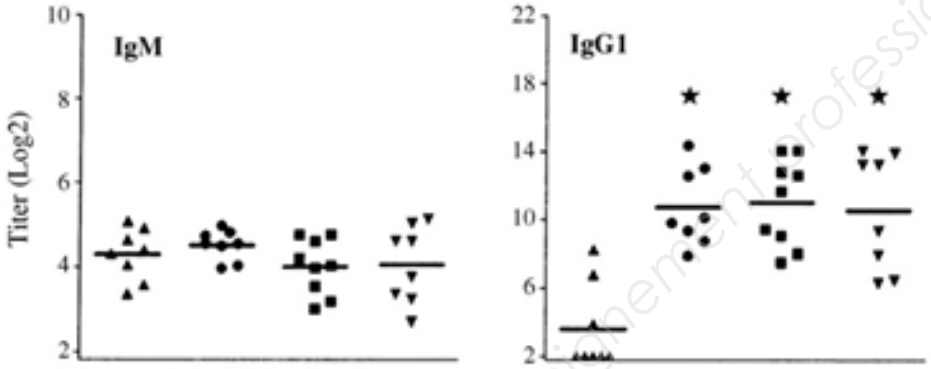
DOCUMENT N°9 : Résultats des dosages ELISA des anticorps spécifiques produits chez des rats selon le type d'alimentation

(Adapté de Kroghsbo et al, Toxicology, 2008)

Résultat des dosages des IgM et IgG1 spécifiques de la lectine PHA-E produits chez des rats (n = 6 à 9 animaux)

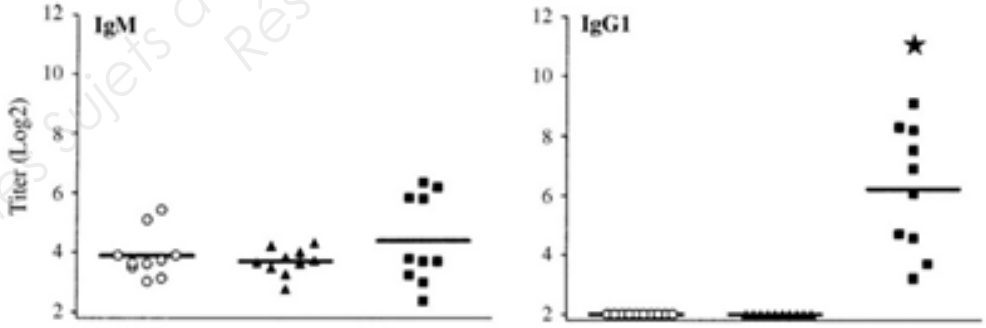
Riz contrôle supplémenté avec :

- *0 % (▲, contrôle) ;*
- *0,01% (●) ;*
- *0,02% (■) ;*
- *0,08% (▼) de lectine PHA-E*



Résultat des dosages des IgM et IgG1 spécifiques de la toxine Bt_m produits chez des rats (n = 10 animaux)

- *riz contrôle (○) ;*
- *riz transgénique exprimant la toxine Bt_m (▲) ;*
- *Riz contrôle supplémenté avec 0,1% de toxine Bt_m recombinante purifiée(■) ;*



Note :

- *Les barres horizontales représentent les moyennes des résultats.*
- *Le symbole ★ correspond à une différence significative entre l'essai et le contrôle.*

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.