

Corrigé – Entraînement à l'étude documentaire

CPES 1 – Janson de Sailly / Université Paris-Cité

DISCLAIMER : Les leçons en rapport avec ces études de document n'ont pas été étudiées. Cela ne devrait pas non plus être impossible de travailler dessus, ne serait-ce que pour comprendre la méthode.

Exercice 1 : CO₂, plantes et évolution

Difficulté : ★☆☆
Chapitre en lien : M2
Tiré du concours général des lycées session 2025

On s'intéresse à la reconstitution des teneurs en dioxyde de carbone (noté pCO₂) au cours des temps géologiques. Pour ceci, on utilisera deux indices liés aux stomates des végétaux et plus particulièrement de *Ginkgo* :

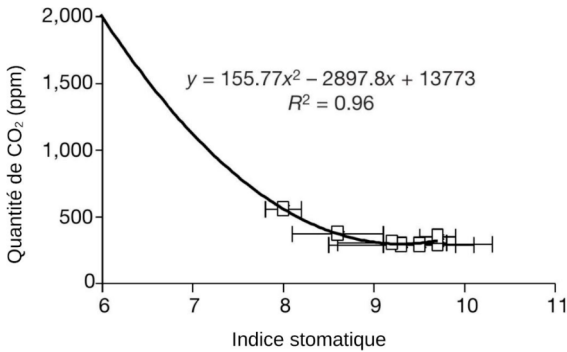
- la **densité stomatique** (SD), correspond au nombre de stomates par unité de surface de feuille en mm²
- l'**indice stomatique** (SI) fondé sur la densité stomatique (SD) et sur la quantité de cellules épidermiques présentes par unité de surface foliaire (ED) : $SI = (SD / (SD + ED))$

Les résultats sont présentés dans le document 1.

DOCUMENT 1 : Densité stomatique et indice stomatique de quelques espèces de *Ginkgo* actuels ou fossiles

Espèces	Age	Densité stomatique (SD)	Indice stomatique (SI)
<i>Ginkgo biloba</i>	1998	97,7	9,3
<i>Ginkgo biloba</i>	1924	134,0	Non déterminé
<i>Ginkgo coriacea</i>	Crétacé ancien	20,3	3,4
<i>Ginkgo huttoni</i>	Jurassique moyen	44,8	5,5
<i>Ginkgo yimaensis</i>	Jurassique-moyen à ancien	10,1	2,6
<i>Ginkgo obrutschewii</i>	Jurassique ancien	59,3	6,7

DOCUMENT 2 : Évolution de l'indice stomatique en fonction de la teneur en CO₂ atmosphérique



Q1 Quelle est la différence entre les points (carrés) et la courbe (document 18) ?

Proposition de corrigé

Nature du document 2 : étude observationnelle. Deux paramètres sont mesurés sur des *Ginkgo biloba* actuels ou récents : l'indice stomatique (SI, en abscisse) et la teneur atmosphérique en CO₂ au moment de la croissance de la feuille (pCO₂, en ppm, en ordonnée). Aucun paramètre n'est contrôlé par l'expérimentateur.

Commenté [M1]: Remarque : l'énoncé mentionne « document 18 » (numérotation du sujet d'origine) : il s'agit du document 2.

Commenté [M2]: Méthode – Étape 2 : toujours commencer par identifier le type de document. Ici, aucune variable n'est fixée par l'expérimentateur : on ne pourra conclure qu'à des corrélations, pas à des causalités.

Les points (carrés) sont des données mesurées : chaque carré correspond à un couple (SI moyen ; pCO₂) réellement observé. Les barres horizontales traduisent la dispersion de l'indice stomatique mesuré sur plusieurs feuilles (de l'ordre de $\pm 0,2$ à $\pm 0,6$ unité de SI). Ces mesures couvrent un domaine restreint : SI ≈ 8 à 9,7 pour pCO₂ ≈ 290 à 560 ppm.

La courbe est un modèle mathématique : une régression polynomiale du second degré ajustée aux points. Le coefficient de détermination proche de 1 ($R^2 = 0,96$) indique que 96 % de la variabilité de pCO₂ est « expliquée » par la variation de SI dans ce modèle : l'ajustement est bon **dans le domaine des mesures**.

Différence essentielle : les points sont des observations, la courbe est une interprétation qui permet d'**interpoler** (estimer pCO₂ entre deux points) et, de façon beaucoup plus risquée, d'**extrapoler**. Entre SI = 6 et SI = 8, la courbe ne repose sur aucune mesure : la valeur de 2 000 ppm lue pour SI = 6 est une extrapolation.

Commenté [M3]: Significativité / recul critique : un R^2 proche de 1 indique un bon ajustement, mais ne prouve ni une causalité, ni la validité du modèle en dehors du domaine des mesures.

Q2 Comment pouvez-vous interpréter la relation entre quantité de stomates et quantité de CO₂ ?

Proposition de corrigé

Observation : d'après le document 2, plus la teneur en CO₂ est élevée, plus l'indice stomatique est faible : SI $\approx 9,5$ pour ≈ 300 ppm contre SI ≈ 8 pour ≈ 560 ppm (et SI = 6 pour $\approx 2\,000$ ppm d'après le modèle). Il existe donc une **corrélation négative** entre pCO₂ et la proportion de stomates dans l'épiderme.

Quelle relation de cause à effet ? S'agissant d'une étude observationnelle, plusieurs interprétations sont a priori possibles :

- pCO₂ → SI : la teneur atmosphérique en CO₂ influence le développement foliaire (hypothèse la plus plausible) ;
- SI → pCO₂ : les stomates d'une seule espèce ne peuvent pas modifier la teneur atmosphérique globale ; hypothèse très peu vraisemblable ;
- un facteur tiers (température, humidité, éclairage...) qui varierait avec pCO₂ et agirait aussi sur SI ;
- une coïncidence, peu probable compte tenu du nombre de points et de $R^2 = 0,96$.

Interprétation fonctionnelle : les stomates sont les sites des échanges gazeux de la feuille. Ils permettent l'entrée du CO₂ nécessaire à la photosynthèse (fixation par la RuBisCO), mais ils sont aussi la principale voie de perte d'eau par transpiration. Lorsque le CO₂ est abondant, un nombre plus faible de stomates suffit à assurer l'approvisionnement en CO₂ : réduire leur proportion limite les pertes d'eau sans pénaliser la photosynthèse. La relation traduit donc un **compromis entre assimilation du carbone et économie d'eau**.

Mécanisme possible : il s'agirait d'une plasticité phénotypique du développement : les feuilles matures perçoivent la teneur en CO₂ et émettent un signal qui réduit la différenciation de cellules épidermiques en stomates dans les jeunes feuilles en croissance. À l'échelle des temps géologiques, la sélection de lignées adaptées peut s'y ajouter.

Pourquoi utiliser SI plutôt que SD ? La densité stomatique dépend aussi de la taille des cellules épidermiques, donc de l'expansion foliaire (sensible à l'eau, à la lumière...). En rapportant le nombre de stomates au nombre total de cellules épidermiques, SI s'affranchit de cet effet : c'est un indicateur plus robuste de pCO₂.

Commenté [M4]: Méthode – étude observationnelle : une corrélation entre X et Y peut s'expliquer par X → Y, Y → X, un facteur tiers W, ou le hasard. Il faut envisager explicitement ces possibilités avant d'en privilégier une. Ici, je vous liste tout, mais il n'est pas nécessaire d'être exhaustif, concentrez-vous sur l'hypothèse la plus pertinente.

Q3 Analyser les documents 1 & 2 afin d'établir l'évolution de la teneur en CO₂ du Jurassique à l'actuel

Proposition de corrigé

Document 1 – étude observationnelle : pour six échantillons de *Ginkgo* (actuels ou fossiles d'âges variés), on dispose de la densité stomatique (SD, en stomates.mm⁻²) et de l'indice stomatique (SI).

Observations : SD et SI varient fortement selon l'âge : SI va de 2,6 (*G. yimaensis*, Jurassique ancien à moyen) à 9,3 (*G. biloba*, 1998), soit un rapport de 1 à 3,6. Les deux indices classent les échantillons dans le même ordre (*yimaensis* < *coriacea* < *huttoni* < *obrutschewii* < *biloba*), ce qui renforce la cohérence des mesures. Toutes les espèces fossiles ont un SI nettement inférieur à celui de l'espèce actuelle.

Comparaison *G. biloba* 1924 / 1998 : SD diminue de 134,0 à 97,7 stomates.mm⁻² (– 27 %) en 74 ans.

Mise en relation des documents 1 et 2 : en appliquant l'équation de calibration du document 2 aux SI du document 1, et en supposant que la relation SI–pCO₂ établie chez *G. biloba* s'applique aux autres espèces du genre, on obtient (échantillons classés du plus ancien au plus récent) :

Espèce	Âge	SI (doc. 1)	pCO ₂ estimée (doc. 2)	Rapport à l'actuel
<i>G. obrutschewii</i>	Jurassique ancien	6,7	≈ 1 350 ppm	× 4,6
<i>G. yimaensis</i>	Jurassique ancien à moyen	2,6	≈ 7 300 ppm	× 25
<i>G. huttoni</i>	Jurassique moyen	5,5	≈ 2 550 ppm	× 8,6
<i>G. coriacea</i>	Crétacé ancien	3,4	≈ 5 700 ppm	× 19
<i>G. biloba</i>	1998	9,3	≈ 296 ppm	× 1

Conclusion : du Jurassique au Crétacé ancien, la teneur atmosphérique en CO₂ était nettement supérieure à l'actuelle (de l'ordre de 1 000 à plusieurs milliers de ppm, soit environ 5 à 25 fois la valeur actuelle d'après le modèle), avec de fortes fluctuations au cours du Mésozoïque. Elle a ensuite diminué jusqu'aux valeurs actuelles (≈ 300 ppm d'après le modèle, ≈ 367 ppm mesurés en 1998).

Recul critique : ces valeurs ne sont que des **ordres de grandeur** :

- les SI fossiles (2,6 à 6,7) sont **hors du domaine de calibration** (SI ≈ 8 à 9,7) : toutes les estimations reposent sur une extrapolation de la parabole, dont la forme (second degré) est arbitraire. Les valeurs supérieures à 5 000 ppm sont probablement surestimées ;
- la calibration porte sur *G. biloba* seul ; rien ne garantit que des espèces éteintes répondaient de la même façon au CO₂ ;
- un seul SI par espèce, sans barre d'erreur ni effectif : impossible d'évaluer la significativité des écarts ; de plus, les âges sont imprécis (« Jurassique ancien à moyen ») ;
- même pour l'actuel, le modèle donne ≈ 296 ppm pour 1998 alors que la valeur mesurée était ≈ 367 ppm : au voisinage du minimum de la parabole, le modèle perd en précision.

Commenté [M5]: Méthode – Étape 3 : c'est le croisement des deux documents qui répond à la question. Expliciter l'hypothèse sous-jacente (principe d'actualisme : la relation actuelle est valable dans le passé et pour d'autres espèces).

Commenté [M6]: Significativité : sans intervalle de confiance sur les SI fossiles, on ne peut pas affirmer que deux valeurs voisines (ex. 5,5 et 6,7) correspondent réellement à des teneurs différentes.

Difficulté : ★★☆☆

Chapitre en lien : G2

Tiré du concours général des lycées session 2023

Exercice 2 : Lactose, lactase et intolérance

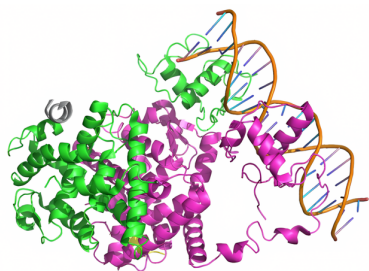
En France, 30 à 50 % des adultes ont une digestion incomplète du lactose.

L'intolérance au lactose est un problème de digestion du lactose contenu dans le lait et ses produits dérivés. Elle provient d'un déficit de lactase. Si la lactase est produite en quantité insuffisante, le lactose n'est pas complètement digéré et parvient dans le colon (gros intestin) où il est fermenté par des bactéries. Ce processus provoque la production de gaz (dont le dioxyde de carbone et le méthane) dans le gros intestin et crée un appel d'eau dans l'intestin grêle. Il en découle une accélération du transit intestinal avec diarrhées, gaz et douleurs.

L'importance des symptômes varie d'un individu à l'autre. Elle est fonction de l'activité lactase restante et de la quantité de lactose absorbée.

DOCUMENT 1 : Le récepteur *PPAR γ*

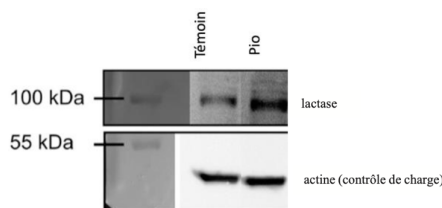
La molécule *PPAR γ* est un facteur de transcription actif dans le noyau qui peut s'associer à l'ADN (ici en orange). C'est un récepteur de molécules ayant des rôles de messagers intracellulaires.



DOCUMENT 2 : Analyse par western blot

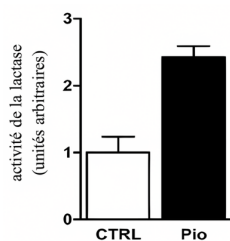
Pio est une molécule activant *PPAR γ* à la place du messenger habituel. Les cellules ont été stimulées pendant 24 heures avec ou sans *Pio*.

Dans cette manipulation, deux anticorps sont utilisés : un anticorps reconnaissant la lactase et un anticorps reconnaissant l'actine (une protéine traduite dans toutes les cellules).



DOCUMENT 3 : Activité de la lactase avec *Pio*

Les cellules ont été stimulées pendant 24 heures avec ou sans *Pio* et les valeurs présentées en unités arbitraires.



Q1 Analyser les documents 1, 2 et 3 pour montrer en quoi *Pio* est une molécule intéressante pour réduire les symptômes liés à l'intolérance au lactose.

Proposition de corrigé

Document 1 – document théorique : modèle moléculaire (structure tridimensionnelle) de *PPAR γ* associé à l'ADN (double hélice orange) ; les chaînes protéiques sont représentées en rubans (hélices α). **Information retenue** : *PPAR γ* est un **récepteur nucléaire** qui, une fois lié à son messenger (ligand), se fixe sur l'ADN et agit comme **facteur de transcription** : il module l'expression de gènes cibles.

Commenté [M7]: Méthode – document théorique : on n'analyse pas la structure pour elle-même, on en extrait l'information utile (*PPAR γ* contrôle la transcription) qui servira à interpréter les documents expérimentaux.

Document 2 – étude expérimentale (western blot) :

- paramètre contrôlé : présence ou absence de Pio pendant 24 h ; lot témoin : cellules non stimulées ; lot test : cellules + Pio ;
- paramètre mesuré : quantité de lactase (bande vers 100 kDa) détectée par un anticorps spécifique ;
- l'actine, protéine exprimée de façon constante dans toutes les cellules, sert de **contrôle de charge** : ses bandes ont une intensité comparable dans les deux pistes, donc une quantité équivalente de protéines totales a été déposée.

Observation : la bande de lactase est nettement plus épaisse et plus intense avec Pio qu'en condition témoin (environ deux fois plus intense à l'œil, en l'absence de quantification densitométrique). **Déduction :** Pio provoque une augmentation de la quantité de lactase dans les cellules.

Document 3 – étude expérimentale : même paramètre contrôlé (Pio ou non pendant 24 h), mais le paramètre mesuré est cette fois l'**activité** de la lactase (unités arbitraires). Témoin (CTRL) : $\approx 1,0 \pm 0,23$; Pio : $\approx 2,4 \pm 0,17$. L'activité est multipliée par $\approx 2,4$. Les barres d'erreur ne se recoupent pas (CTRL $\leq 1,23$; Pio $\geq 2,25$) : la différence peut être considérée comme significative (sous réserve que les barres représentent un intervalle de confiance).

Mise en relation (étape 3) : Pio active PPAR γ ; or PPAR γ est un facteur de transcription (doc. 1) ; on observe une hausse de la quantité de lactase (doc. 2) et de son activité dans des proportions comparables (doc. 3).

Hypothèse explicative : PPAR γ activé par Pio se fixe sur une séquence régulatrice du gène de la lactase et en stimule la transcription : plus d'ARNm, donc plus d'enzyme traduite, donc une activité totale plus élevée.

Intérêt pour l'intolérance au lactose : les symptômes résultent d'une activité lactase résiduelle insuffisante : le lactose non hydrolysé dans l'intestin grêle est fermenté dans le côlon (gaz, appel d'eau, diarrhées). En augmentant la quantité et l'activité de la lactase des entérocytes, Pio permettrait d'hydrolyser davantage de lactose en glucose et galactose absorbables dans l'intestin grêle, donc de réduire la quantité de lactose atteignant le côlon et les symptômes qui en découlent.

Commenté [M8] : Méthode – attention : l'actine n'est pas un témoin expérimental ! C'est un contrôle de charge, qui garantit seulement que la comparaison des deux pistes est légitime.

Commenté [M9] : Significativité : on compare les barres d'erreur ; ici elles sont disjointes. Toujours vérifier ce qu'elles représentent (écart-type, erreur standard, IC 95 %) : seul un IC 95 % permet d'appliquer rigoureusement la règle du cours.

Commenté [M10] : Méthode – Étape 3 : relier explicitement les documents entre eux pour construire une chaîne causale (Pio $\rightarrow$ PPAR γ $\rightarrow$ transcription $\rightarrow$ quantité de lactase $\rightarrow$ activité).

Commenté [AF11] : Fun fact : Pio, la pioglitazone, est utilisée comme médicament antidiabétique.

Exercice 3 : Bactérie, fermentation et alcool

Difficulté : ★★★

Chapitre en lien : M1 et G2

Tiré du concours agro-véto voie TB session 2017

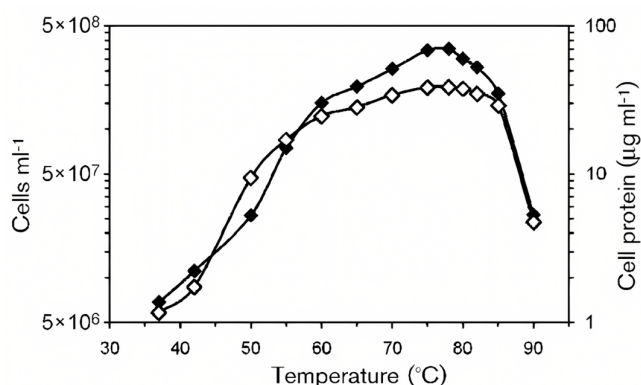
L'accroissement de la demande mondiale en carburant, la baisse inexorable des réserves de pétrole font des biocarburants une ressource alternative durable et renouvelable pour le futur.

Des efforts considérables ont été mis en œuvre afin de produire des biocarburants de deuxième génération à partir d'une biomasse lignocellulosique (bois, paille, déchets, résidus agricoles et forestiers, cultures dédiées). La culture des plantes utilisées n'entre plus en concurrence directe avec les cultures vivrières.

Le sujet propose d'étudier une souche de *Caldicellulosiruptor bescii*, bactérie cellulolytique modifiée génétiquement, candidate de choix pour la production directe de bio-éthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique. Cette souche présente l'intérêt de réaliser l'ensemble des étapes de production de bio-éthanol, depuis la digestion de la biomasse jusqu'à sa synthèse, sans recourir ni à un prétraitement chimique, ni à une digestion enzymatique exogène (deuxième génération simplifiée).

DOCUMENT 1 : Effet de la température sur la croissance de *C. bescii*

La croissance est suivie par mesure de la concentration bactérienne (♦) et mesure de la concentration en protéines (◇).



Q1 Analyser le document 3. Proposer une explication de l'allure générale des deux courbes obtenues.

Proposition de corrigé

Type de document : étude expérimentale. Paramètre contrôlé : la température de culture (de 37 à 90 °C). Paramètres mesurés : la concentration bactérienne (cellules.mL⁻¹, ♦, axe de gauche) et la concentration en protéines cellulaires (µg.mL⁻¹, ◇, axe de droite), deux estimateurs de la biomasse produite. Il n'y a pas de témoin unique : chaque température est comparée aux autres, toutes choses égales par ailleurs (milieu et durée de culture, non précisés).

Observations :

- de 37 à ≈ 78 °C, les deux paramètres augmentent : de ≈ 7.10⁶ à ≈ 3,5.10⁸ cellules.mL⁻¹ (× 50 environ) et de ≈ 1,2 à ≈ 38 µg.mL⁻¹ de protéines (× 30 environ) ;
- un optimum est atteint vers 75–78 °C ;
- au-delà, la chute est brutale : à 90 °C, ≈ 2,5.10⁷ cellules.mL⁻¹ et ≈ 5 µg.mL⁻¹, soit une division par ≈ 14 et ≈ 8 en seulement 12 °C ;
- les deux courbes évoluent parallèlement : la quantité de protéines par cellule reste de l'ordre de 0,1 à 0,2 pg (ex. 38 µg.mL⁻¹ / 3,5.10⁸ cellules.mL⁻¹ ≈ 0,1 pg par cellule).

Commenté [M12]: VIGILANCE ! – repérer les échelles logarithmiques ! Chaque graduation principale correspond à une multiplication par 10 : on exprime alors les variations en facteurs multiplicatifs plutôt qu'en différences.

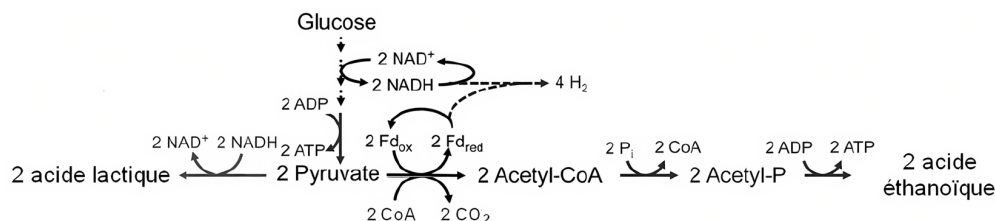
Déductions : *C. bescii* se développe entre 37 et 90 °C avec un optimum vers 75–78 °C : c'est une bactérie **thermophile** (voire hyperthermophile). Les deux mesures sont corrélées car la teneur en protéines est proportionnelle au nombre de cellules : ce sont deux estimations concordantes de la croissance.

Hypothèse explicative de l'allure des courbes : la croissance résulte de l'ensemble des réactions du métabolisme, catalysées par des enzymes.

- phase ascendante : l'élévation de la température augmente l'agitation moléculaire et la fréquence des rencontres enzyme–substrat ; la vitesse des réactions enzymatiques augmente (environ $\times 2$ tous les 10 °C), donc la croissance augmente ;
- au-delà de l'optimum : les liaisons faibles (liaisons hydrogène, interactions hydrophobes...) qui stabilisent la structure tridimensionnelle des protéines sont rompues ; les enzymes sont **dénaturées** et perdent leur activité, et les membranes deviennent trop fluides. La dénaturation étant un phénomène coopératif et rapide, la chute est brutale ;
- la position très élevée de l'optimum suggère que les protéines et les membranes de *C. bescii* présentent des adaptations à la chaleur (protéines thermostables, lipides membranaires particuliers).

Commenté [M13]: Méthode – séparer clairement les observations (chiffrées), les déductions et les hypothèses explicatives, qui mobilisent les connaissances (ici : effet de la température sur l'activité enzymatique).

DOCUMENT 2 : Voies métaboliques simplifiées chez *C. bescii*



Q2 Quelles voies métaboliques vous identifiez dans le document 2 ?

Proposition de corrigé

Document 2 – document théorique (schéma de voies métaboliques). On y identifie :

- la **glycolyse** (flèches pointillées) : glucose $\rightarrow$ 2 pyruvate, avec production nette de 2 ATP (phosphorylation au niveau du substrat) et réduction de 2 NAD⁺ en 2 NADH ;
- la **fermentation lactique** : 2 pyruvate + 2 NADH $\rightarrow$ 2 acide lactique + 2 NAD⁺, catalysée par la lactate déshydrogénase (LDH) ; elle régénère le NAD⁺ nécessaire à la poursuite de la glycolyse, sans produire d'ATP supplémentaire ;
- la **fermentation acétique** : acétyl-CoA + P_i $\rightarrow$ acétyl-P $\rightarrow$ acide éthanoïque (acétate), avec production de 2 ATP supplémentaires par phosphorylation au niveau du substrat ;
- (la **production de dihydrogène** : des hydrogénases réoxydent le NADH et la ferrédoxine réduite en réduisant des protons (2 H⁺ + 2 e⁻ $\rightarrow$ H₂), soit 4 H₂ par glucose.) -> Non étudié

Bilans : voie lactique : glucose $\rightarrow$ 2 lactate + 2 ATP ; voie acétique : glucose $\rightarrow$ 2 acétate + 2 CO₂ + 4 H₂ + 4 ATP. Ces voies sont toutes des **fermentations** : aucune chaîne respiratoire ni accepteur externe d'électrons (O₂) n'intervient, ce qui est cohérent avec la vie anaérobie de *C. bescii*. Le pyruvate est un **carrefour métabolique** : les branches lactique et acétique sont en compétition pour le pyruvate et pour le pouvoir réducteur. Aucune voie de production d'éthanol n'existe chez la souche sauvage.

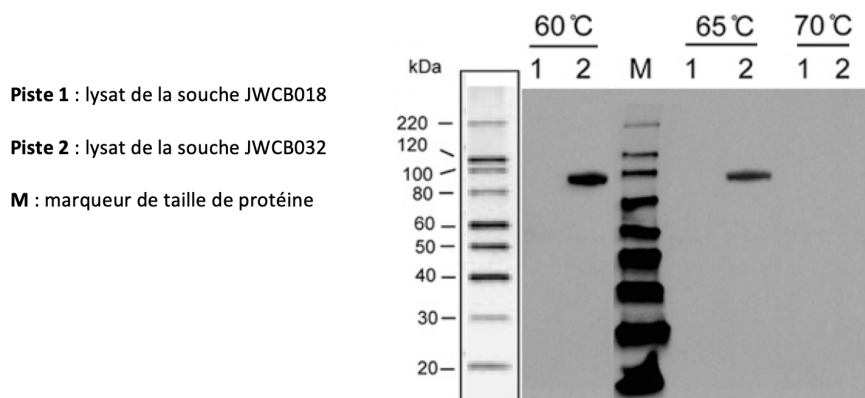
Commenté [M14]: Les informations extraites ici (compétition des voies au niveau du pyruvate, rôle des cofacteurs NADH et ferrédoxine) seront indispensables pour interpréter le document 4.

Un mutant naturel de *C. bescii*, la souche JWCB018, est déficient en *ldh* (*ldh*, gène codant la lactate déshydrogénase).

A partir de ce mutant, on a créé la souche JWCB032 productrice de bio-éthanol en lui intégrant, par recombinaison à sites spécifiques, le gène *adhe* (séquence d'environ 2,4 kpb).

DOCUMENT 3 : Contrôle de l'expression de l'enzyme AdhE par Western Blot

Les bactéries sont cultivées dans 50 mL de milieu LOD à 1 % (m/v) de cellobiose (un monomère de la cellulose), à trois températures différentes 60 °C, 65 °C et 70 °C.



Q3.a Quel est le sens de migration sur l'électrophorèse présentée au document 3 ?

Proposition de corrigé

En électrophorèse dénaturante (SDS-PAGE), les protéines, rendues uniformément négatives par le SDS, migrent depuis les puits (en haut) vers l'anode (+), située en bas ; le gel de polyacrylamide agit comme un tamis : les protéines les plus petites migrent le plus loin. On le vérifie avec le marqueur de taille : les bandes de 220 kDa sont en haut, celles de 20 kDa en bas. Ainsi la migration s'effectue **du haut vers le bas** du gel.

Q3.b Calculer et commenter la taille de l'enzyme exprimée par la souche JWCB032

Données : 1 acide aminé ~110 Da

Proposition de corrigé

Type de document : étude expérimentale. Paramètres contrôlés : la souche (JWCB018, sans *adhe* = témoin négatif ; JWCB032, ayant intégré *adhe* = test) et la température de culture (60, 65, 70 °C). Paramètre mesuré : présence et quantité de l'enzyme AdhE, révélée par un anticorps anti-AdhE.

Observations : une seule bande est détectée, uniquement dans les pistes JWCB032 à 60 °C et à 65 °C. Elle se situe entre les marqueurs de 80 et de 100 kDa, très près de 100 kDa : **masse apparente ≈ 95 kDa**. Elle est plus intense à 60 °C qu'à 65 °C et absente à 70 °C. Aucune bande pour JWCB018.

Calcul de la taille attendue : le gène *adhe* mesure ≈ 2,4 kpb, soit $2\,400 / 3 = 800$ codons, dont un codon stop : ≈ 799 acides aminés. Masse attendue ≈ $799 \times 110 \text{ Da} \approx 88 \text{ kDa}$.

Commentaire : la masse apparente (≈ 95 kDa) est cohérente avec la masse calculée (≈ 88 kDa), compte tenu de l'imprécision de la lecture sur le gel et de la taille approximative du gène (« environ 2,4 kpb »). La protéine détectée est donc bien l'enzyme AdhE codée par le gène intégré : le transgène est transcrit et traduit dans la souche JWCB032, et seulement dans celle-ci.

Commenté [M15]: Méthode – JWCB018 joue le rôle de témoin négatif : elle ne possède pas le gène *adhe*, aucune bande n'est attendue. L'absence de signal montre aussi que l'anticorps ne reconnaît aucune autre protéine de la bactérie.

DOCUMENT 4 : Résultats de production des 3 souches de *C. bescii*

Les cultures sont réalisées en double essai, en flacon de 125 mL contenant 50 mL de milieu LOD à 1 % (m/v) de cellobiose, à 65 °C, sous agitation à 150 rpm.

Les différents métabolites sont dosés à l'état initial et après 48 h de croissance. Les rendements de conversion notés Y sont calculés, par exemple Y_{L/C} représente le rendement de conversion du cellobiose en lactate.

Souches	Concentration des différents métabolites (à 48h) (mmol.L ⁻¹)						Rendement de conversion (à 48 h)			
	Cellobiose initial (mmol.L ⁻¹)	Cellobiose final	Lactate	Acétate	Ethanol	diHydrogene	Y _{L/C}	Y _{A/C}	Y _{E/C}	Y _{H/C}
Sauvage	28.4 ± 0.11	18.9 ± 0.42	1.3 ± 0.07	6.9 ± 0.23	0.0	11.8 ± 0.21	0.65	3.45	0.0	5.90
JWCB018	28.4 ± 0.36	19.7 ± 0.27	0.0	9.3 ± 0.56	0.0	14.5 ± 0.53	0.0	4.05	0.0	6.30
JWCB032	28.4 ± 0.25	16.9 ± 1.57	0.0	5.5 ± 0.30	15.3 ± 0.19	9.8 ± 0.64	0.0	1.14	3.19	2.04

Note : Lactate (L), Acétate (A), Ethanol (E), diHydrogène (H), Cellobiose (C)

Q4 Analyser et expliquer les résultats du document 4 pour conclure quant à l'intérêt de la souche JWCB032.

Proposition de corrigé

Type de document : étude expérimentale. Paramètre contrôlé : le génotype de la souche — sauvage (témoin), JWCB018 (*ldh*⁻), JWCB032 (*ldh*⁻ + *adhe*). Paramètres fixés : 65 °C, milieu LOD à 1 % de cellobiose, 48 h, 150 rpm, deux essais par souche. Paramètres mesurés : concentrations finales en cellobiose et en produits de fermentation (lactate, acétate, éthanol, H₂), et rendements de conversion.

Pour comparer les souches, on calcule le cellobiose consommé (initial – final) et la quantité de chaque produit formée par mmol de cellobiose consommée :

Souche	Cellobiose consommé (mmol.L ⁻¹)	Lactate	Acétate	Éthanol	H ₂
Sauvage	9,5	0,14	0,73	0	1,24
JWCB018	8,7	0	1,07	0	1,67
JWCB032	11,5	0	0,48	1,33	0,85

Commenté [M16]: Méthode – deux comparaisons successives, chacune ne faisant varier qu'un seul facteur : sauvage vs JWCB018 (effet de la perte de *ldh*), puis JWCB018 vs JWCB032 (effet de l'ajout d'*adhe*). C'est le principe du « toutes choses égales par ailleurs ».

Commenté [M17]: Remarque : les rendements Y du tableau ne se retrouvent pas à partir des concentrations (ex. sauvage : 1,3 / (28,4 – 18,9) ≈ 0,14 et non 0,65). Leur mode de calcul n'étant pas précisé, on raisonne sur les concentrations et sur nos propres rapports produit / cellobiose consommé.

Colonnes Lactate à H₂ : mol de produit formée par mol de cellobiose consommée.

Sauvage → JWCB018 (perte de *ldh*) :

- le lactate ne produit pas de lactate par rapport au témoin (1,3 ± 0,07 → 0 mmol.L⁻¹) : la LDH est indispensable à la fermentation lactique, ce qui confirme le document 2 (relation de causalité) ;
- l'acétate augmente de 6,9 ± 0,23 à 9,3 ± 0,56 mmol.L⁻¹ par rapport au témoin (+ 35 %) et H₂ de 11,8 ± 0,21 à 14,5 ± 0,53 mmol.L⁻¹ (+ 23 %), intervalles disjoints. Le pyruvate qui n'est plus réduit en lactate est redirigé vers l'acétyl-CoA, et le NADH qui n'est plus réoxydé par la LDH l'est par les hydrogénases, d'où davantage d'H₂ ;
- la consommation de cellobiose est voisine (9,5 contre 8,7 mmol.L⁻¹).

JWCB018 → JWCB032 (ajout d'*adhe*) :

- apparition d'éthanol (15,3 ± 0,19 mmol.L⁻¹) par rapport au témoin, qui devient le produit majoritaire (≈ 2,8 fois plus que l'acétate) : l'expression d'*AdhE* (document 3) est la cause de cette production ;
- l'acétate diminue de 9,3 à 5,5 mmol.L⁻¹ (– 41 %) et H₂ de 14,5 à 9,8 mmol.L⁻¹ (– 32 %), intervalles disjoints ;
- la consommation de cellobiose semble plus élevée (11,5 mmol.L⁻¹), mais l'incertitude sur le cellobiose final (± 1,57) rend cette différence peu sûre.

Interprétation : AdhE est une enzyme bifonctionnelle (acétaldéhyde / alcool déshydrogénase) qui réduit l'acétyl-CoA en éthanol en consommant 2 NADH : $\text{acétyl-CoA} + 2 \text{NADH} \rightarrow \text{éthanol} + \text{CoA} + 2 \text{NAD}^+$. Elle entre en **compétition** avec la voie acétique pour l'acétyl-CoA et avec les hydrogénases pour le NADH, ce qui explique la baisse simultanée de l'acétate et de l' H_2 . La suppression préalable de *ldh* évite qu'une partie du pyruvate et du NADH soit détournée vers le lactate.

Significativité : les résultats sont donnés sous la forme moyenne $\pm$ dispersion pour seulement deux essais. Avec $n = 2$, un véritable intervalle de confiance à 95 % serait très large ; les « $\pm$ » correspondent vraisemblablement à un écart-type ou à un écart à la moyenne. Les conclusions sont robustes pour les grandes variations (apparition ou disparition du lactate et de l'éthanol), plus fragiles pour les écarts modestes (consommation de cellobiose).

Conclusion sur l'intérêt de JWC032 : cette souche produit de l'éthanol directement à partir de cellobiose, à 65 °C, sans prétraitement ni enzyme ajoutée, et ne produit plus de lactate : c'est une preuve de concept de biocarburant de deuxième génération « simplifié ».

Commenté [M18]: Méthode – Étape 3 : c'est le document 2 (théorique) qui permet d'expliquer les variations mesurées dans le document 4 ; penser aux carrefours métaboliques et à l'équilibre des cofacteurs (NADH / NAD^+).

Commenté [M19]: Significativité : toujours se demander ce que représente le « $\pm$ » et combien de répétitions ont été faites. Ici $n = 2$: prudence. Mais c'est déjà bien de repérer les intervalles de confiance, à ne surtout pas ignorer !

Difficulté : ★★★★★

Chapitre en lien : BC2 (oui), M1 et G2

Tiré du concours agro-vétro voie BCPST session 2025

Exercice 4 : Lait, digestion et exosomes

Les exosomes correspondent à des vésicules extracellulaires retrouvées dans le lait, contenant divers composants.

DOCUMENT 1: Les exosomes et la digestion

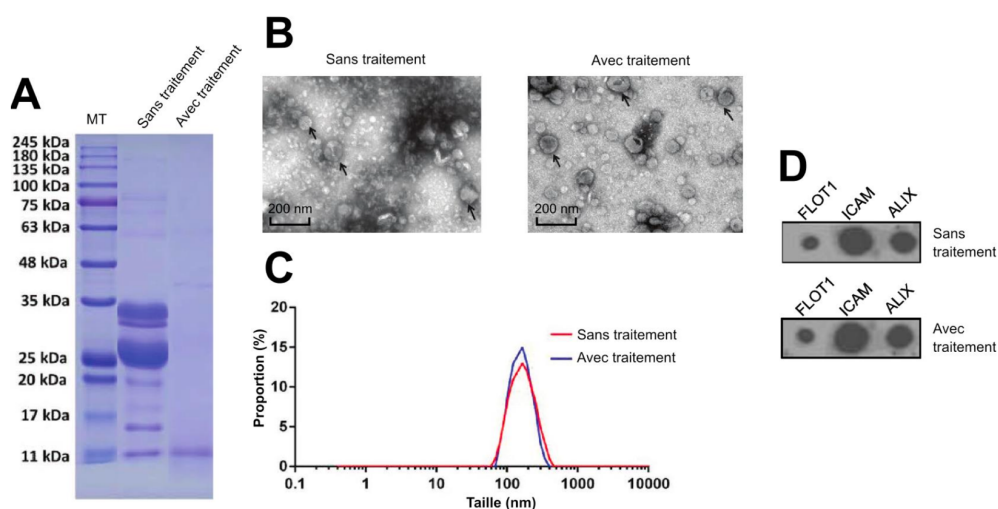
On réalise le traitement in vitro suivant, mimant les premières étapes de la digestion : 3 mL de lait sont placés dans de la salive (pH = 6,8) pendant 5 minutes, puis dans du suc gastrique (pH = 2) pendant 60 minutes, puis dans du liquide pancréatique (pH = 7) pendant 60 minutes.

(A) Coloration au bleu de Coomassie (colorant des protéines) d'un gel d'électrophorèse de protéines de lait réalisé en conditions dénaturantes, sans ou avec traitement du lait. MT = marqueur de taille, kDa = kiloDalton.

(B) Visualisation en microscopie électronique de constituants du lait particuliers, les exosomes (vésicules extracellulaires), sans ou avec traitement du lait. Les flèches indiquent les exosomes.

(C) Comparaison des tailles des exosomes sans ou avec traitement.

(D) Western blot révélant 3 protéines contenues dans les exosomes, sans ou avec traitement du lait.



Q1 À partir de l'analyse du document 1, déterminer le devenir des protéines du lait (libres ou au sein des exosomes) lors de la digestion.

Proposition de corrigé

Le document 1 est une **étude expérimentale** : paramètre contrôlé = traitement du lait mimant la digestion (salive pH 6,8 → suc gastrique pH 2 → liquide pancréatique pH 7) ; lot témoin = lait sans traitement ; lot test = lait traité. Quatre paramètres sont mesurés (A à D).

A – Électrophorèse dénaturante (SDS-PAGE), coloration au bleu de Coomassie (protéines totales du lait) :

- sans traitement : nombreuses bandes, dont des bandes majeures vers 28–35 kDa et 22–25 kDa (vraisemblablement les caséines), et d'autres vers 20, 17, 14 et 11 kDa (protéines du lactosérum, ex. β -lactoglobuline $\approx$ 18 kDa) ;
- avec traitement : quasiment toutes les bandes disparaissent ; seule subsiste une bande vers 11 kDa.

Commenté [M20]: Méthode – un même document peut regrouper plusieurs techniques : identifier pour chacune ce qui est mesuré, puis faire la synthèse.

Déduction : les protéines libres du lait sont hydrolysées par les protéases digestives (pepsine gastrique, trypsine et chymotrypsine pancréatiques) en peptides trop petits pour être retenus et visibles sur le gel.

B – Microscopie électronique (barre d'échelle : 200 nm) : des exosomes, vésicules arrondies d'environ 50 à 150 nm de diamètre délimitées par une membrane, sont visibles avec et sans traitement, avec une morphologie comparable ou difficilement différenciable.

C – Distribution des tailles des exosomes : la distribution est centrée sur $\approx 150\text{--}170$ nm (de ≈ 60 à ≈ 400 nm) dans les deux conditions ; le pic culmine à $\approx 13\%$ sans traitement et à $\approx 15\%$ avec traitement (distribution légèrement plus resserrée). La taille des exosomes n'est donc pas modifiée par la digestion simulée.

D – Western blot de trois protéines exosomales (FLOT1, ICAM, ALIX) : les signaux ont des tailles et des intensités similaires avec et sans traitement ; ces protéines sont donc conservées après la digestion simulée (le traitement).

Synthèse : les protéines libres du lait sont digérées, alors que les exosomes résistent : ils conservent leur morphologie, leur taille et leur contenu protéique. **Hypothèse** : la membrane (bicouche lipidique) des exosomes protège les protéines internes de l'action des protéases ; les protéines membranaires exosomales sont peut-être elles-mêmes résistantes (glycosylation, repliement compact). Les exosomes pourraient ainsi atteindre l'intestin intacts, avec leur contenu (protéines, ARN).

Recul critique : la bande résiduelle de 11 kDa (A) pourrait provenir des sucs digestifs eux-mêmes : il manque une piste « sucs digestifs seuls ». Le western blot (D) n'est pas quantifié et ne porte que sur trois protéines ; enfin, la digestion réelle est plus longue et plus complexe (sels biliaires, lipases) : des essais in vivo seraient nécessaires. On peut regretter l'absence d'incertitude pour le graphique C.

Commenté [M21]: Méthode – photo : toujours préciser la technique d'observation et l'échelle, puis estimer la taille des structures à partir de la barre d'échelle.

Commenté [M22]: Méthode – l'axe des abscisses est logarithmique. Les deux courbes se superposent presque ; sans barre d'erreur ni test statistique, la petite différence de hauteur des pics ne peut pas être discutée.

Commenté [M23]: Méthode – Étape 3 : croiser les quatre résultats (A à D) pour opposer le devenir des protéines libres et celui des protéines exosomales.

DOCUMENT 2 : Les exosomes et l'épithélium intestinal

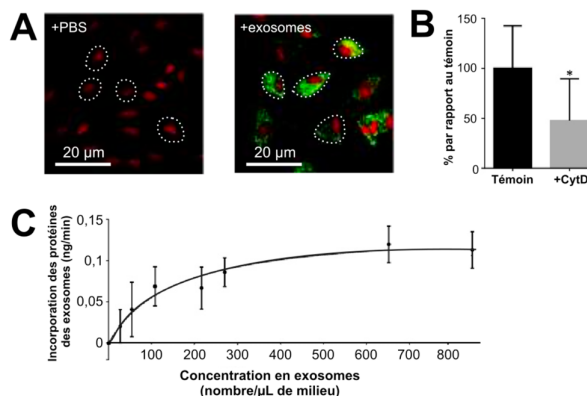
Après traitement selon le protocole précédent, le lait est mis en présence de cellules épithéliales intestinales en culture.

A : Visualisation en microscopie à fluorescence des noyaux (en rouge) et une protéine des exosomes (en vert). Quelques membranes plasmiques sont indiquées en pointillés.

B : Nombre d'exosomes internalisés (en % par rapport au témoin) après ajout de cytochalasine D (CytD), un inhibiteur de l'endocytose.

C : Vitesse d'incorporation des exosomes en fonction de leur concentration dans le milieu.

* = résultats statistiquement différents.



Q2 À partir d'une analyse du document 2, montrer que les exosomes sont endocytés après liaison à un récepteur membranaire des cellules intestinales cultivées in vitro et qu'une simple fusion avec la membrane plasmique peut être exclue. (Je sais que la question est fourbe car elle appelle du BC2, mais il faut avouer qu'elle est cool)

Proposition de corrigé

A – Microscopie à fluorescence (échelle : 20 µm), étude expérimentale. Témoin : cellules + PBS (solution saline sans exosomes) ; test : cellules + exosomes. Paramètre mesuré : localisation de la fluorescence verte (protéine exosomale).

Observations : avec PBS, seuls les noyaux (rouges) sont visibles, sans aucune fluorescence verte. Avec exosomes, la fluorescence verte est localisée à l'intérieur des cellules, dans le cytoplasme autour du noyau et à l'intérieur des contours membranaires, sous forme d'amas ponctuels plutôt que d'un liseré sur la membrane plasmique. **Déduction** : le contenu des exosomes est internalisé par les cellules intestinales ; la répartition ponctuelle évoque des compartiments vésiculaires (endosomes).

B – Effet de la cytochalasine D : paramètre contrôlé = présence de CytD (inhibiteur de l'endocytose, qui bloque la polymérisation de l'actine) ; témoin sans CytD (100 %) ; paramètre mesuré = nombre d'exosomes internalisés. Avec CytD : ≈ 48 % du témoin, soit une diminution d'environ 52 %, signalée comme statistiquement significative (par l'astérisque « * »). **Déduction** : une part importante de l'internalisation dépend d'un processus actine-dépendant, l'endocytose. L'internalisation résiduelle (≈ 48 %) peut s'expliquer par une inhibition incomplète par la CytD ou par d'autres voies d'entrée.

C – Cinétique d'incorporation : paramètre contrôlé = concentration en exosomes (0 à ≈ 860 exosomes.µL⁻¹) ; paramètre mesuré = vitesse d'incorporation des protéines exosomales (ng.min⁻¹).

- aux faibles concentrations, la vitesse augmente presque proportionnellement (≈ 0,07 ng.min⁻¹ pour ≈ 100 exosomes.µL⁻¹) ;
- elle tend ensuite vers un plateau de ≈ 0,11–0,12 ng.min⁻¹ au-delà de ≈ 600 exosomes.µL⁻¹ ; la demi-vitesse maximale est atteinte vers ≈ 100 exosomes.µL⁻¹.

Déduction : l'incorporation est un phénomène saturable, de cinétique hyperbolique analogue à celle d'une enzyme (courbe de Michaelis-Menten) ou d'un transporteur. La saturation traduit un nombre limité de sites de prise en charge à la surface cellulaire : les exosomes doivent se lier à des récepteurs membranaires avant d'être internalisés.

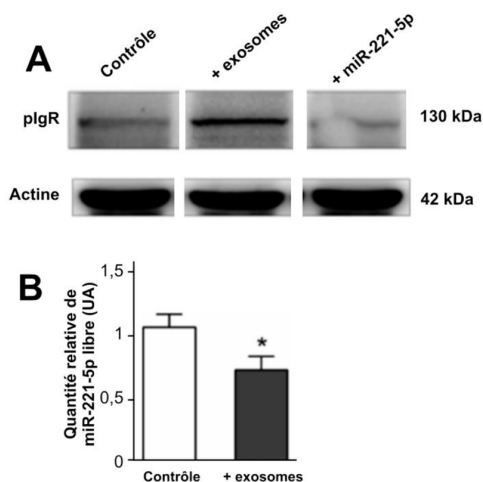
Commenté [M24]: Méthode – microscopie : préciser la technique et l'échelle, puis décrire la localisation des signaux par rapport aux structures repères (noyau, membrane).

Commenté [M25]: Significativité : les barres d'erreur sont très grandes (≈ ± 40 %) et, si elles étaient symétriques, se recouvreraient. C'est pourtant le test statistique (*) qui fait foi : ces barres sont sans doute des écarts-types et non des IC 95 %. Bien distinguer ces deux notions.

Commenté [M26]: Méthode – Étape 3 : mobiliser un raisonnement par analogie (cinétique enzymatique, transport facilité vs diffusion simple) : une saturation signe l'intervention d'un nombre fini de protéines.

Exclusion d'une simple fusion : une fusion directe de la membrane de l'exosome avec la membrane plasmique serait un phénomène non spécifique, dépendant seulement de la fréquence des collisions : sa vitesse serait proportionnelle à la concentration en exosomes, sans plateau (comme une diffusion simple), et elle ne serait pas inhibée par la CytD. Elle intégrerait de plus les protéines membranaires de l'exosome à la membrane plasmique (liséré périphérique), alors qu'on observe des amas intracellulaires. Les trois résultats concordent : **les exosomes sont endocytés après liaison à un récepteur membranaire** (endocytose dépendante de récepteurs).

DOCUMENT 3 : Les exosomes et l'expression génétique



plgR est une protéine des cellules de la muqueuse intestinale qui permet de transférer des anticorps depuis le milieu intérieur vers la lumière de l'intestin.

A : On met des cellules épithéliales d'intestin de souris en culture dans différentes conditions, puis on réalise un

Western blot utilisant des anticorps ciblant plgR ou l'actine.

Contrôle = cellules non traitées ;

+ exosomes = cellules mises en présence d'exosomes ;

+ miR-221-5p = cellules transformées avec un ARN de petite taille.

B : Mesure de la quantité relative de miR-221-5p libre dans le cytosol des cellules épithéliales en présence ou non d'exosomes.

Q3 À partir de l'analyse du document 3A et des connaissances utiles sur les petits ARN, réaliser un schéma explicitant la fonction et le mode d'action de miR-221-5p dans les cellules intestinales.

Proposition de corrigé

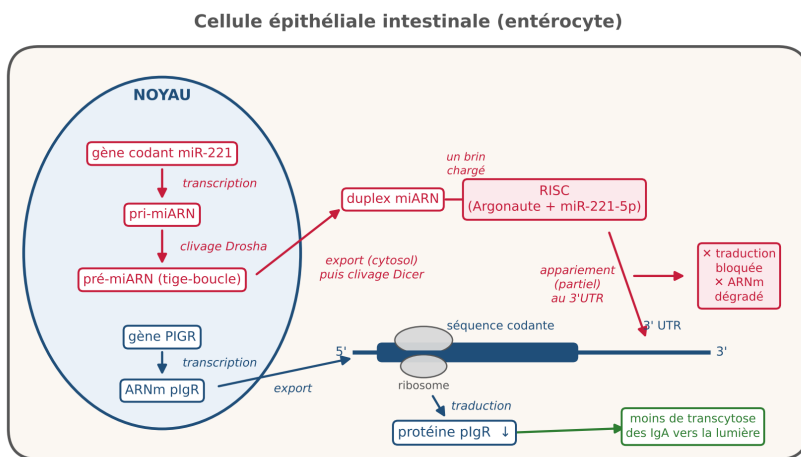
Analyse du document 3A (étude expérimentale, western blot) : paramètre contrôlé = traitement des cellules (témoin : contrôle non traité ; tests : + exosomes ; + miR-221-5p) ; paramètre mesuré = quantité de plgR (130 kDa). L'actine (42 kDa) est le contrôle de charge : bandes d'intensité comparable dans les trois pistes.

Observations : par rapport au contrôle, la bande de plgR est plus intense avec les exosomes et nettement plus faible lorsque les cellules ont reçu miR-221-5p. **Déduction** : miR-221-5p diminue la quantité de protéine plgR : c'est un **répresseur de l'expression de plgR** (relation de causalité, puisque seul l'apport de miR-221-5p diffère du contrôle).

Connaissances sur les petits ARN : les micro-ARN (miARN) sont des ARN non codants de ~22 nucléotides. Ils sont transcrits puis maturés dans le noyau et exportés dans le cytosol puis clivés par Dicer en un duplex dont un brin est chargé dans le complexe RISC. Guidé par le miARN, RISC s'apparie de façon partiellement complémentaire à la région 3' non traduite (3'UTR) d'ARNm cibles : il en **bloque la traduction** et/ou en **provoque la dégradation**. C'est une régulation **post-transcriptionnelle**.

Commenté [M27]: Méthode – la comparaison des pistes n'est légitime que parce que le contrôle de charge (actine) est équivalent dans toutes les pistes.

Schéma du mode d'action de miR-221-5p :



Légende / fonction : dans les entérocytes, miR-221-5p réprime l'expression de plgR en agissant sur son ARNm. Il limite ainsi la quantité de récepteurs disponibles pour transférer les anticorps (IgA dimériques) du milieu intérieur vers la lumière intestinale.

Commenté [M28]: Méthode – distinguer ce que montre le document (miR-221-5p diminue plgR) de ce qu'apportent les connaissances (mécanisme via RISC et 3'UTR), et le signaler dans la légende du schéma.

Q4 Analyser le document 3 pour expliquer en quoi les exosomes sont impliqués dans la défense de l'organisme contre les pathogènes.

Proposition de corrigé

Document 3B – étude expérimentale : paramètre contrôlé = présence d'exosomes ; paramètre mesuré = quantité relative de miR-221-5p libre dans le cytosol. Contrôle : $\approx 1,06 \pm 0,10$ UA ; + exosomes : $\approx 0,73 \pm 0,11$ UA, soit une diminution d'environ 31 %. Les barres d'erreur ne se recoupent pas (contrôle $\geq 0,96$; exosomes $\leq 0,84$) et la différence est signalée comme significative (*).

Mise en relation des documents 3A et 3B : les exosomes diminuent la quantité de miR-221-5p libre (3B) ; or miR-221-5p réprime plgR (3A, piste + miR-221-5p) ; et les exosomes augmentent la quantité de plgR (3A, piste + exosomes). **Hypothèse :** les exosomes du lait apportent dans la cellule une molécule (par exemple un ARN complémentaire jouant le rôle d'« éponge », ou une protéine liant les miARN) qui séquestre ou dégrade miR-221-5p ; moins de miR-221-5p disponible pour RISC → levée de la répression de l'ARNm de plgR → davantage de plgR traduit.

Lien avec la défense de l'organisme (connaissances) : plgR, situé au pôle basolatéral des entérocytes, fixe les IgA dimériques sécrétées par les plasmocytes du chorion, assure leur transcytose jusqu'au pôle apical, puis est clivé : les IgA sont libérées dans la lumière sous forme d'IgA sécrétoires, associées à un fragment de plgR (pièce sécrétoire). Ces IgA neutralisent les pathogènes et leurs toxines et empêchent leur adhésion à l'épithélium (immunité des muqueuses). Plus de plgR → plus d'IgA transférées dans la lumière → meilleure protection de la muqueuse intestinale.

Synthèse du corpus (documents 1 à 3) : les exosomes du lait résistent à la digestion (doc. 1), sont endocytés par les cellules intestinales après liaison à un récepteur (doc. 2), puis diminuent la quantité de miR-221-5p libre, ce qui augmente l'expression de plgR (doc. 3) et donc vraisemblablement la sécrétion d'IgA dans la lumière

Commenté [M29]: Significativité : ici, les deux critères concordent (barres disjointes et test statistique significatif) : la conclusion est solide.

Commenté [M30]: Méthode – Étape 3 : construire une chaîne causale en reliant explicitement chaque maillon à un document.

intestinale. Le lait contribuerait ainsi à renforcer la défense immunitaire intestinale du jeune, en plus des anticorps qu'il contient.

Recul critique : étude in vitro sur des cellules de souris ; western blot non quantifié et apparemment réalisé une seule fois ; le transfert d'IgA n'est pas mesuré ; le composant exosomal responsable n'est pas identifié.

Commenté [M31]: Méthode – Étape 3 : la dernière question invite à prendre de la hauteur sur l'ensemble du corpus de l'exercice.