

CONCOURS GÉNÉRAL DES LYCÉES

—

SESSION 2022

—

BIOCHIMIE-BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

(Classes de terminale série STL)

EPREUVE D'ADMISSIBILITE

Durée : 5 heures

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de la calculatrice sans mémoire « type collège » est autorisé.*

L'usage du dictionnaire « anglais-français » est autorisé.

Les différentes parties du sujet peuvent être traitées de manière indépendante.

Consignes aux candidats

- Ne pas utiliser d'encre claire
- N'utiliser ni colle, ni agrafe
- Numéroté chaque page en bas à droite (numéro de page / nombre total de pages)
- Sur chaque copie, renseigner l'en-tête + l'identification du concours :

Concours / Examen : CGL

Epreuve : 101

Matière : BIOT

Session : 2022

Les microorganismes halophiles en biotechnologies

La biodiversité, et plus particulièrement la biodiversité microbienne, est un réservoir considérable d'applications potentielles en biotechnologies. Dans la course aux espèces de microorganismes présentant des potentialités biotechnologiques élevées, les microbiologistes ont été amenés à prospecter des environnements extrêmes ainsi définis par leur température, leur pression, leur pH ou leur salinité.

Parmi ces organismes on distingue les halophiles, qui requièrent des concentrations élevées en sel pour leur croissance.

Les halophiles appartiennent aux trois domaines du vivant : procaryotes, archées et eucaryotes mais se rencontrent essentiellement dans le domaine des archées.

Cette vie en conditions extrêmes est possible grâce à la mise en place de systèmes qui permettent à ces microorganismes de maintenir un équilibre osmotique avec le milieu environnemental, d'empêcher la dénaturation des protéines par les « sels », de se protéger des ultra-violets et de réaliser la photosynthèse grâce à la présence de protéines pigmentaires comme la bactériorubérine et la bactériorhodopsine. Ces deux protéines sont également responsables de la couleur rose - rouge de nombreux milieux riches en sel.



Marais salant

Lac salé d'Assal (Djibouti)



La laguna Colorada Bolivie

Après étude des microorganismes halophiles et de leurs mécanismes d'adaptation en milieu salé, ce sujet se propose de mettre l'accent sur un métabolite des halophiles et ses applications dans les domaines des biotechnologies.

1. Diversité des halophiles dans le monde du vivant

1.1. Place des archées dans le monde vivant

Le **document 1** présente l'organisation cytotologique des bactéries, des archées et des eucaryotes.

Q1. En vous appuyant sur le **document 1**, comparer la structure et l'ultrastructure des archées à celles des bactéries et des eucaryotes et conclure sur les différences morphologiques entre ces 3 types cellulaires.

La classification des êtres vivants est une science en constante évolution. Elle prend désormais en compte les critères de biologie moléculaire ce qui a permis d'établir la classification phylogénétique. Celle-ci répartit les organismes vivants en trois domaines : archées, bactéries et eucaryotes.

Le **document 2A** présente l'arbre phylogénétique basé sur le séquençage de l'ARN 16S. Cet ARN est hautement conservé entre les différentes espèces vivantes et permet ainsi de suivre l'évolution des organismes dans la mesure où sa vitesse d'évolution relativement lente permet d'établir des divergences génétiques anciennes. **Le document 2B** compare quant à lui l'organisation du génome et les différentes formes de l'ARN polymérase.

Q2. Analyser le **document 2 (A et B)** et indiquer si les informations obtenues sont en accord avec les observations morphologiques et structurales de la question précédente.

Le **document 3** présente l'organisation des lipides au sein des membranes cytoplasmiques des bactéries, de certaines archées et des eucaryotes.

Q3. Comparer la composition moléculaire et l'organisation des membranes présentées dans le **document 3** et en déduire les raisons pour lesquelles les membranes des archées sont particulièrement résistantes aux conditions extrêmes.

Q4. A l'aide des réponses aux questions précédentes, rédiger une courte synthèse pour positionner les archées vis à vis des eucaryotes et des bactéries.

1.2. Classification des halophiles

Les **documents 4A et 4B** présentent la croissance des organismes vivants en fonction de la concentration en chlorure de sodium.

Q5. Identifier les microorganismes halotolérant et halophile en argumentant la réponse ; puis préciser la catégorie à laquelle appartient le genre *Halobacterium*.

Les courbes du **document 4A** ont été obtenues en déterminant des taux de croissance.

Q6. Expliquer comment déterminer expérimentalement un taux de croissance puis proposer un protocole permettant d'établir la courbe d'*Halobacterium* sp du **document 4A**.

1.3. Croissance du genre *Halobacterium*

La plupart des archées halophiles sont aérobies, chimioorganotrophes. Certaines cependant sont photosynthétiques grâce à la bactériorhodopsine.

Afin d'étudier le genre *Halobacterium*, il faut être capable de l'isoler et de le cultiver sur milieu gélosé. Pour cela on se propose d'utiliser le milieu de Chapman dont la composition est donnée dans le **document 5**.

Q7. Proposer une définition du terme « chimioorganotrophe ».

Q8. Déterminer si le milieu de Chapman est adapté à la croissance du genre *Halobacterium*. Présenter le raisonnement permettant de répondre à cette question.

Données : masses molaires Cl : $35,5 \text{ g.mol}^{-1}$; Na : 23 g.mol^{-1} .

Q9. A l'aide d'une synthèse des réponses aux questions précédentes, proposer une composition d'un milieu de culture convenant à la croissance d'*Halobacterium*.

Il est parfois nécessaire d'utiliser un agent sélectif dans les milieux de culture afin de sélectionner le germe d'intérêt parmi une population microbienne.

Q10. A l'aide des **documents 6A** et **6B**, discuter l'intérêt d'utiliser la pénicilline comme agent sélectif.

2. Adaptation des organismes halophiles aux conditions extrêmes de salinité

2.1. Intégrité cellulaire d'*Halobacterium salinarum* et dépendance au sel.

On cherche à préciser l'effet d'une diminution de la concentration en ions minéraux sur ces micro-organismes.

Le **document 7** représente le suivi de la croissance pendant 7 jours de cette archée mise en culture dans des milieux présentant différentes concentrations en NaCl.

Q11. Analyser le **document 7** et conclure sur l'effet de la concentration en NaCl sur la culture de ces halophiles. En déduire la capacité de l'espèce *Halobacterium salinarum* à s'adapter à une diminution de la salinité de son environnement.

La viabilité des cellules *Halobacterium salinarum* à différentes concentrations en NaCl a été évaluée par cytométrie de flux en utilisant deux agents intercalants fluorescents de l'ADN : le Syto 9 et l'iodure de propidium (Pi) (**document 8**). Syto 9 traverse passivement les membranes alors que Pi les traverse uniquement si elles sont endommagées.

Q12. Analyser le **document 8** et déterminer l'effet des conditions de salinité sur l'intégrité des membranes et de l'ADN.

2.2. Étude du phénomène d'osmose

La concentration en solutés d'une solution modifie son osmolarité². La différence de concentration en solutés entre l'intérieur et l'extérieur d'une cellule est à l'origine d'une pression osmotique au niveau de la membrane plasmique conduisant à des mouvements d'eau de part et d'autre de cette membrane.

Q13. A l'aide du **document 9**, argumenter le sens du mouvement de l'eau à travers la membrane semi-perméable³ lors du mécanisme de l'osmose.

Q14. En utilisant les données du **document 10**, calculer l'osmolarité² des différentes eaux présentées. Préciser les conséquences de l'augmentation de la salinité de l'eau sur un microorganisme sachant que la membrane plasmique bactérienne est comparable à une membrane semi-perméable³.

2.3. Deux mécanismes pour affronter le stress osmotique chez les bactéries halophiles

Deux mécanismes principaux ont été identifiés chez les organismes halophiles pour vivre dans un environnement hypersalé :

- l'accumulation intracellulaire d'ions inorganiques,
- l'utilisation de solutés compatibles⁴.

2.3.1. Accumulation intracellulaire d'ions inorganiques

Dans ce premier mécanisme, le cation majoritairement accumulé est l'ion K^+ .

Q15. Préciser la conséquence d'une augmentation de la concentration en K^+ sur l'osmolarité² du cytoplasme. Expliciter l'intérêt de cette accumulation pour la bactérie.

Le **document 11** présente la répartition des ions dans les milieux intracellulaires et extracellulaires et des transports membranaires d'*Halobacterium salinarum*.

Q16. Expliquer le sens de diffusion des ions K^+ et Na^+ à travers la membrane cytoplasmique.

Halobacterium est un organisme fortement pigmenté. Sa couleur est due en partie à une protéine membranaire spéciale, la bactériorhodopsine.

Q17. Après avoir rappelé les caractéristiques d'un transport actif et celles d'un transport passif, préciser le type de transport dont *Halobacterium salinarum* a besoin pour maintenir la concentration en potassium intracellulaire élevée.

Q18. En vous appuyant sur le **document 11**, expliquer le mécanisme par lequel la bactériorhodopsine assure les transports transmembranaires.

L'accumulation d'ions inorganiques a des conséquences sur la solubilité des protéines intracellulaires, présentée dans le **document 12**.

Q19. Analyser le **document 12** et en déduire l'effet d'une accumulation intracellulaire d'ions inorganiques sur les protéines. Expliquer le mécanisme par lequel l'excès de sels inorganiques peut entraîner une inactivation protéique.

Les protéines des bactéries halophiles sont donc adaptées à cette hypersalinité.

Q20. Rappeler la structure générale d'un acide aminé.

Les chaînes latérales (ou radicaux) des différents acides aminés sont présentées dans le **document 13A**. Le **document 13B** donne les valeurs de pK_A de différents acides aminés.

Q21. Repérer, parmi ceux-ci, les acides aminés à radical acide et ceux à radical basique. En utilisant les valeurs de leurs pK_A , écrire la forme ionique de ces radicaux au pH cellulaire voisin de la neutralité.

Le **document 14** présente, sur des représentations de structure moléculaire tridimensionnelle, les surfaces électrostatiques résultant de la composition en acides aminés acido-basiques à la surface des enzymes malate déshydrogénase (MDH) d'un microorganisme halophile et d'un microorganisme non halophile

Q22. Comparer les surfaces électrostatiques des deux protéines. En déduire l'adaptation des protéines des organismes halophiles afin de contrer le stress salin. Proposer une explication sur les interactions entre ces protéines et les ions K^+ accumulés.

2.3.2 Utilisation de solutés compatibles⁴

Le second mécanisme utilisé pour affronter le stress osmotique consiste à augmenter l'osmolarité² cytoplasmique en accumulant de petites molécules organiques appelées solutés compatibles⁴ comme l'ectoïne, la glycine, la bétaïne, les polyols et acides aminés. Ces solutés sont des composés organiques, polaires, de faible masse moléculaire et solubles dans l'eau à de fortes concentrations.

Des études ont rapporté que l'accumulation intracellulaire d'ectoïne joue un rôle majeur dans la résistance à l'hypersalinité chez la plupart des bactéries halophiles et leur confère, ainsi un excellent moyen de s'adapter à de fortes diminutions de salinité (crues, inondations).

Le **document 15** présente la synthèse de l'ectoïne à partir de l'aspartate et son devenir lors de perturbations environnementales.

Q23. A l'aide du **document 15**, nommer les réactions chimiques numérotées de 1 à 3 intervenant dans la synthèse de l'ectoïne.

Q24. Montrer comment une bactérie halophile utilisant ce second mécanisme peut s'adapter aux variations de salinité de son environnement.

3. Procédés de production de l'ectoïne à partir d'*Halomonas elongata*

Les organismes halophiles, produisant de nombreux métabolites intéressants, ont généré de multiples applications dans le domaine industriel. L'un de ces métabolites, l'ectoïne, présente des propriétés de protection des protéines en atténuant les effets néfastes du froid, des températures élevées et de la sécheresse. L'ectoïne peut même protéger les cellules entières contre des stress tels que les radiations UV ou les cytotoxines. Les industriels se sont donc intéressés à cette molécule en vue d'en faire un nouveau composant des produits de santé et des cosmétiques.

Une entreprise produit en bioréacteur de l'ectoïne à grande échelle selon deux procédés présentés dans le **document 16** :

- dans le premier procédé, la **souche sauvage** halophile *Halomonas elongata* est cultivée en fed-batch sur un milieu minimum, salé à 10 %, en atmosphère aérobie et à 30°C.
- dans le second, une souche mutante, le **mutant leaky**, est cultivée en culture continue, sur un milieu minimum, salé à 5 %, en atmosphère aérobie et à 30 °C.

Q25. Présenter les caractéristiques et l'intérêt d'un milieu minimum pour la productivité.

Q26. Reporter les numéros sur la copie pour annoter le schéma du bioréacteur présenté dans le **document 17** en rappelant le rôle de chacun des éléments représentés.

Le **document 18** présente deux modes de production en bioréacteur : fed-batch et culture continue.

Q27. Décrire ces deux modes de production et dégager les avantages et inconvénients de chacune d'entre elle.

3.1. Procédé de production en fed-batch de l'ectoïne avec la souche sauvage d'*Halomonas elongata*

Le **document 19** présente l'influence de la concentration en NaCl dans le milieu de culture sur la croissance d'*H. elongata* et sa production intracellulaire d'ectoïne.

Q28. Analyser le document pour argumenter le choix par l'entreprise d'utiliser 10 % de NaCl pour son milieu de culture en vue de la production d'ectoïne.

Dans le **document 16**, l'étape 3 représente une étape de changement de salinité du milieu pour la culture.

Q29. En vous appuyant sur le **document 15**, expliquer l'intérêt du transfert de la biomasse d'un milieu à 10 % de NaCl à un milieu à 2 % de NaCl.

Les étapes suivantes permettent de purifier l'ectoïne. L'étape 3 est suivie d'une microfiltration (étape 4 **document 16**).

Q30. Indiquer l'intérêt de cette microfiltration.

La purification de l'ectoïne se poursuit par une chromatographie échangeuse de cations (étape 6) qui nécessite au préalable une phase de dessalage (étape 5).

Q31. Argumenter l'intérêt du dessalage à cette étape de la purification.

Q32. Indiquer la propriété que l'ectoïne doit présenter pour être séparée des autres constituants du milieu lors de l'étape 6 de chromatographie.

3.2. Procédé de production en continu de l'ectoïne à partir de la souche mutée d'*Halomonas elongata*, « leaky mutant »

Le second procédé de production utilise une souche mutée d'*H. elongata* présentant une caractéristique intéressante pour la production industrielle en continu. Le **document 20** présente une expérience qui met en évidence cette caractéristique ainsi que les résultats obtenus.

Q33. Expliquer la présence du halo bleu autour du spot du « leaky mutant » et l'absence de halo autour du spot de la souche sauvage. En déduire la propriété du « leaky mutant » ainsi mise en évidence.

Q34. En vous appuyant sur les **documents 16 et 20**, montrer les avantages à utiliser ce « leaky mutant » par rapport à la souche sauvage pour la production industrielle d'ectoïne.

4. Exemples d'applications biotechnologiques

4.1. Utilisation de l'ectoïne en cosmétique

Les ultra-violets de type A (UV-A) représentent près de 95 % du rayonnement UV qui atteint la surface de la Terre. Ils peuvent pénétrer dans les couches profondes de la peau. Ils favorisent le vieillissement prématuré de la peau et l'apparition de rides, en perturbant l'équilibre de synthèse et de dégradation de protéines telles que le collagène et l'élastine.

Q35. A l'aide du **document 21**, caractériser le type de tissu dans lequel se trouvent les protéines responsables du vieillissement.

Q36. A partir du **document 22**, expliquer le mécanisme par lequel les UV-A contribuent au vieillissement de la peau.

Q37. Rappeler le nom et la localisation des étapes permettant la synthèse d'une protéine dans une cellule eucaryote.

Des expériences *in vitro* sur des cellules de peau (kératinocytes) en culture ont été réalisées. Dans ces expériences, des kératinocytes en culture préalablement traités ou non avec de l'ectoïne, sont irradiés à l'aide d'UV-A. Le **document 23** présente les résultats de l'une de ces expériences.

Q38. En vous appuyant sur les **documents 22 et 23**, démontrer l'effet protecteur de l'ectoïne.

Le **document 24** modélise les effets de l'ectoïne sur des kératinocytes.

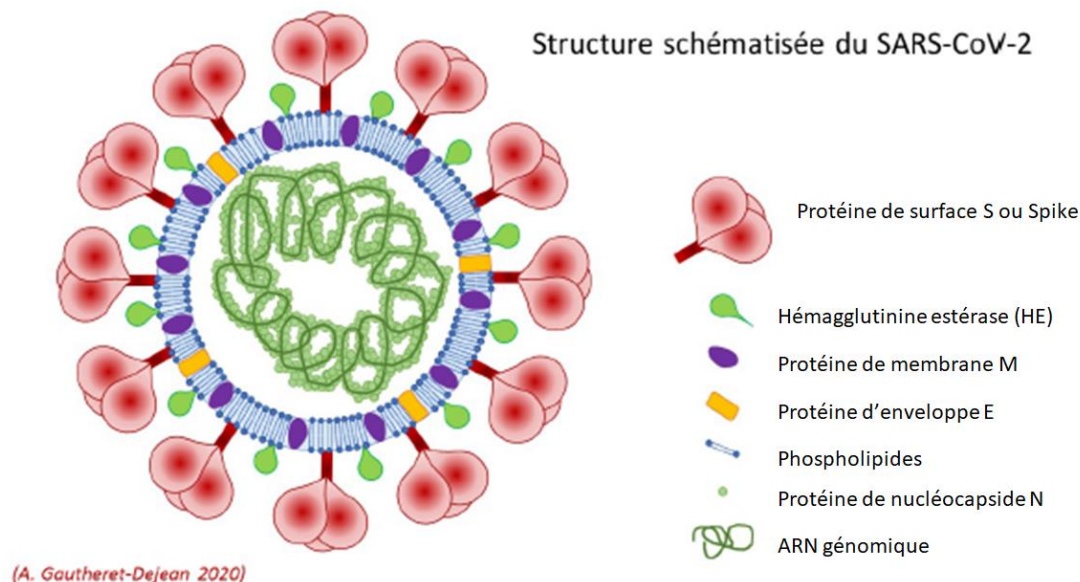
Q39. A partir du **document 24**, recenser les effets de l'ectoïne justifiant son utilisation dans la formulation d'une crème antirides.

4.2. Application dans le domaine médical

Suite à la pandémie de la COVID 19, une étude a été menée sur un effet potentiel de l'ectoïne sur l'infection par le Sars-Cov2.

Cette étude, basée sur une technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) décrite dans le **document 25**, permet de mettre en évidence la protéine S virale. L'IFI est une technique d'immunomarquage qui utilise un fluorochrome comme marqueur, ici l'alexfluor 488.

Le schéma ci-dessous présente la structure du virus et notamment la localisation de la protéine S.



Source : *euofins-biomnis*

La protéine S virale interagit spécifiquement avec un récepteur des cellules humaines, ce qui aboutit à l'infection des cellules par le virus.

Q40. A partir du **document 25**, réaliser un schéma légendé de l'édifice moléculaire obtenu en cas de résultat positif lors de la technique d'IFI.

Les résultats de l'étude sont présentés dans le **document 26**.

Q41. Analyser ces résultats et conclure sur l'effet potentiel de l'ectoïne sur l'infection virale.

Par le passé, les microorganismes principalement étudiés étaient ceux vivant dans des environnements proches de celui de l'homme.

L'exploration des milieux extrêmes (les milieux hypersalins, les déserts brûlants, les glaces de l'Antarctique, les fonds océaniques et terrestres ...) a montré qu'ils abritent une multitude d'organismes atypiques. Leur étude a permis de mettre en évidence des capacités d'adaptation extraordinaires.

Les scientifiques étudient cette biodiversité particulière pour comprendre leurs mécanismes adaptatifs et leurs possibles utilisations dans les domaines des biotechnologies.

Espérons que les recherches et les applications industrielles qui en seront faites, seront encadrées par une approche éthique dans le respect des dimensions écologiques, sociétales, économiques, politiques... dans la perspective d'un mieux vivre avec la nature.

Glossaire

1 – **Densité cellulaire normalisée** : la densité des cellules mesurée est rapportée à un facteur permettant de comparer directement l'augmentation ou la diminution de croissance.

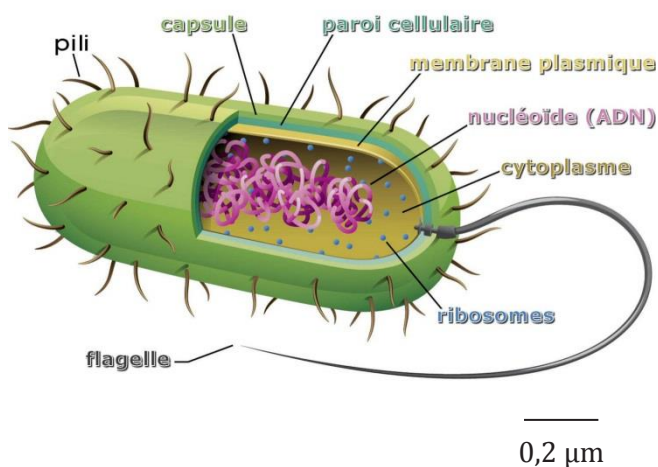
2- **Osmolarité** : somme des concentrations de l'ensemble des particules dissoutes (particules osmotiquement actives) dans une solution.

3- **Membrane semi-perméable** : membrane perméable uniquement à l'eau et non aux solutés

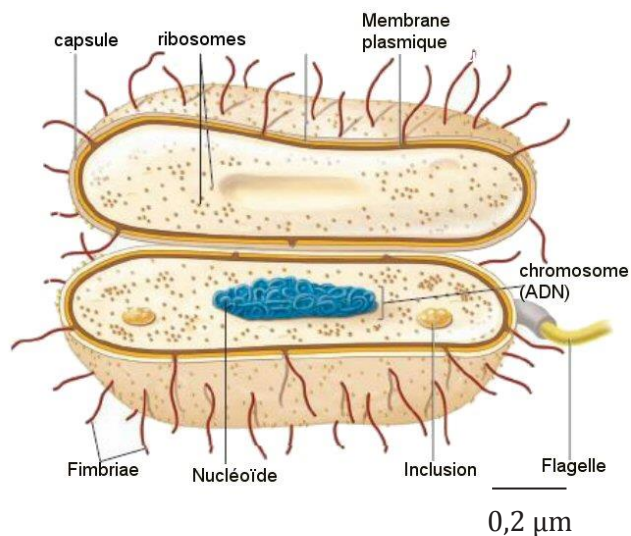
4- **Soluté compatible** : petite molécule organique polaire, très soluble dans l'eau, ayant un point isoélectrique neutre ($pHi = 7$). Il agit comme osmoprotecteur en permettant à un organisme de survivre à un stress osmotique extrême sans que son activité métabolique n'en soit perturbée (compatible).

Document 1 : Structure d'organismes composant les 3 domaines du vivant : bactéries, eucaryotes et archées.

Morphologie et ultrastructure d'une bactérie



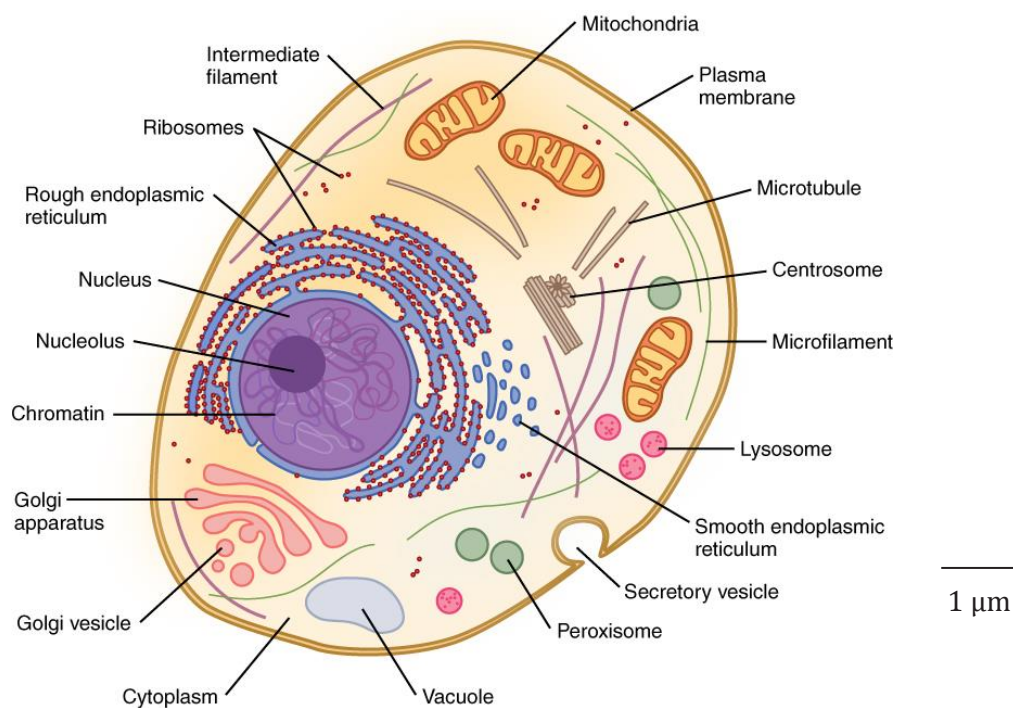
Morphologie et ultrastructure d'une archée



Source : www.thoughtco.com/prokaryotes-meaning-373369

Source : *micro-organismes des milieux extrêmes de Melle DJINNI Ibtissem, Université Abderahmane MIRA-Bejaia 2016-2017*

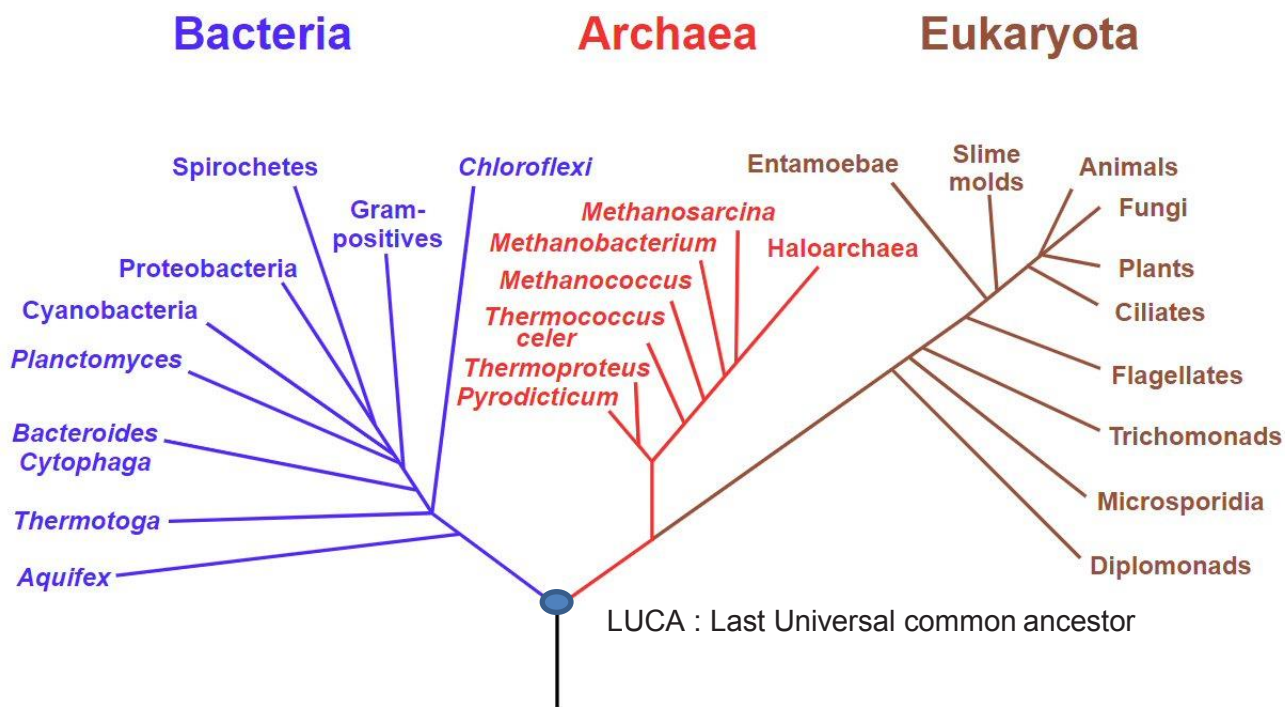
Ultrastructure d'une cellule eucaryote



Source : Par OpenStax — <https://cnx.org/contents/FPtK1z mh@8.25:fEI3C8Ot@10/Preface>, CC BY 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=30131195>

Document 2 : Les domaines du vivant

Document 2A : Arbre phylogénétique des organismes vivants



Arbre phylogénétique hypothétique de tous les organismes vivants. L'arbre est basé sur des séquences de l'ARNr 16S. A l'origine proposé par Carl Woese, il montre l'histoire évolutive des trois domaines du vivant (bactéries, archées et eucaryotes).

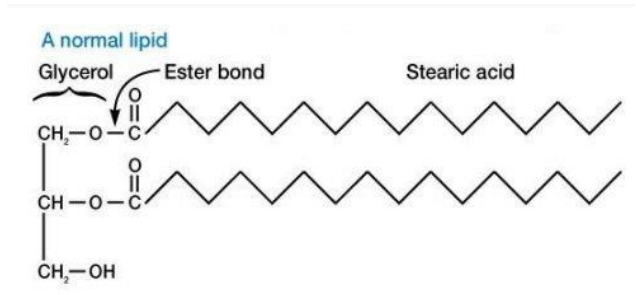
Source : Eric Gaba — NASA Astrobiology Institute, from Carl Woese

Document 2B : Organisation du génome et de l'ARN polymérase des 3 domaines

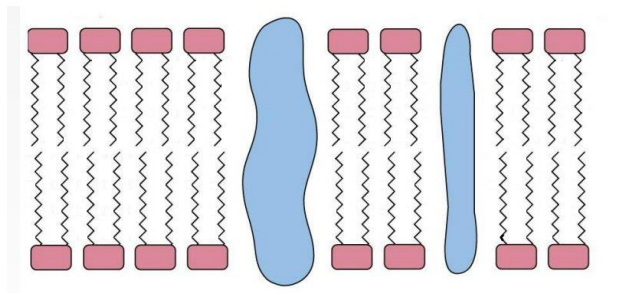
	bactérie	archée	eucaryote
ARN polymérase	Une forme	Plusieurs formes	Plusieurs formes
Introns (partie non codante du génome)	Absent	Présent dans certains gènes	Présent
Histones associées à l'ADN	Absentes	Présentes	Présentes
Chromosome circulaire	Présent	Présent	Absent

Document 3 : Organisation de la membrane plasmique des bactéries, eucaryotes et certaines archées.

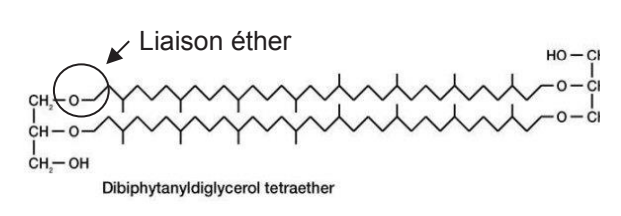
Organisation des glycérides des membranes cytoplasmiques des eucaryotes et des bactéries



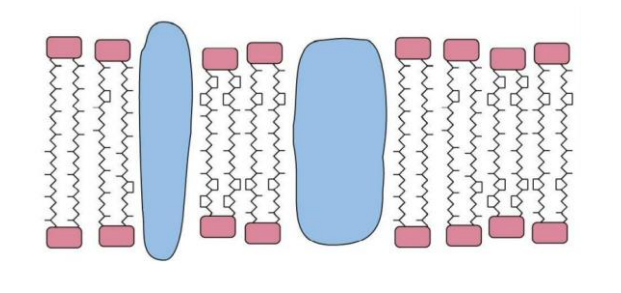
Membrane constituée de protéines intégrées et de phospholipides



Organisation des lipides des membranes cytoplasmiques de certaines archées



Membrane constituée de protéines et de tétraéthers

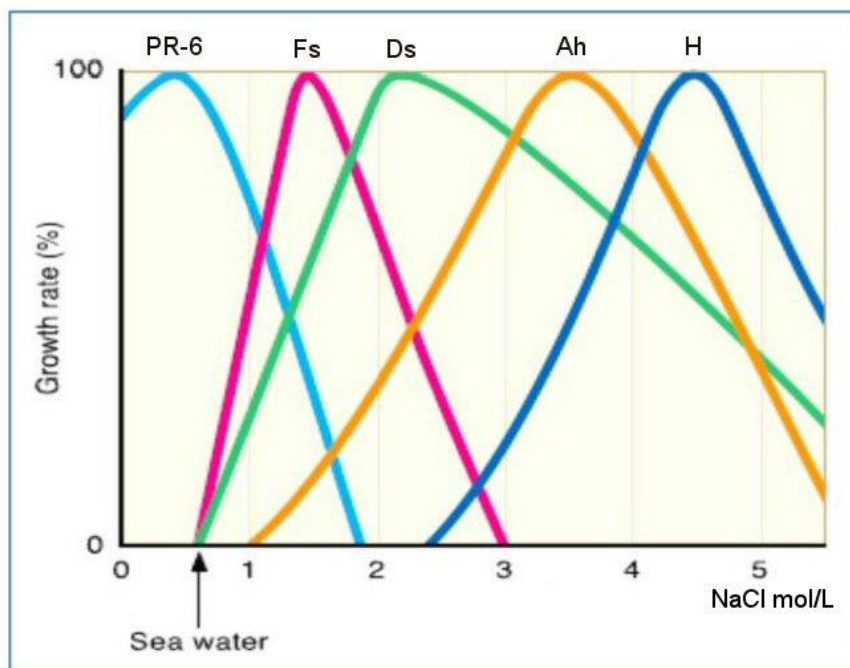


Source : microbiologie Prescott De Boeck Université troisième édition

Document 4 Influence de la concentration en NaCl sur la croissance

Document 4A : Variation du taux de croissance en fonction de la concentration en NaCl

Synechococcus sp PCC 7002 (PR-6) : bactérie - *Fabrea salina* (Fs) : protozoaire - *Dunaliella salina* (Ds) : algue
- *Aphanothece halophitica* (Ah) : cyanobactérie - *Halobacterium* sp NRC-1(H) (DasSarma, 2006) : archée.



Document 4B : Classification des micro-organismes en fonction de leur besoins en sel pour leur croissance.

catégorie	concentration saline mol/L
non halophile	< 0,2 mol/L
faiblement halophiles	0,2 à 0,5 mol/L
halophiles modérés	0,5 à 2,5 mol/L
halophiles extrêmes	2,5 à 5,2* mol/L
halotolérants **	0,2 à 2,5 mol/L

* saturation

** organismes capables de se développer en présence de très faibles concentrations en sel tout en tolérant des concentrations élevées.

Source : proposé par Kushner (1987) et rapporté par Tang et al.(2003)

Document 5 : Composition du milieu de Chapman

Pour 1000 mL de milieu :

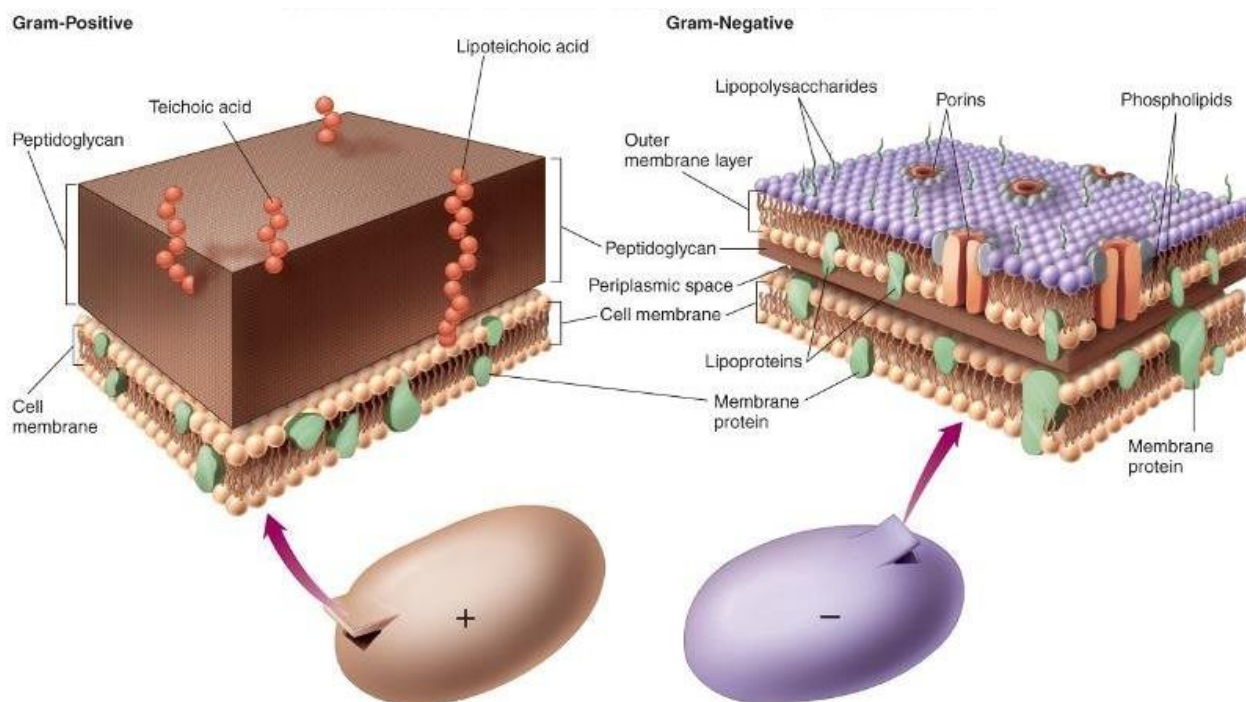
- peptone : 10 g
- extrait de bœuf : 1 g
- chlorure de sodium : 75 g
- D-mannitol : 10 g
- rouge de phénol : 25 mg
- agar : 15 g.

Ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$ à 25 °C (après autoclavage).

Document 6 : Les parois bactériennes

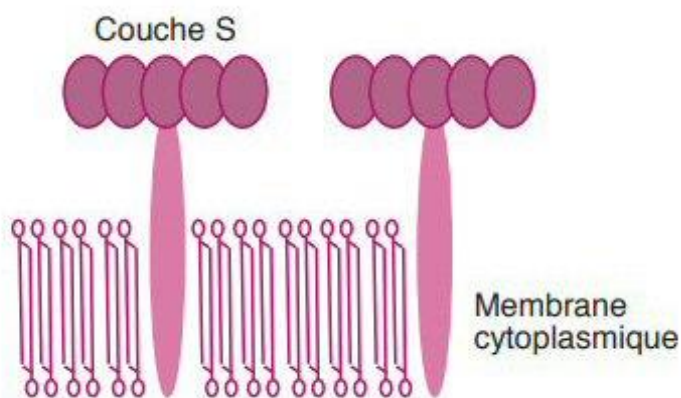
Document 6A : Organisation de la paroi des bactéries et de certaines archées

⇒ **Composition de la paroi des bactéries Gram+ et Gram -**



Source : Image Adapted from McGraw-Hill Microbiology20

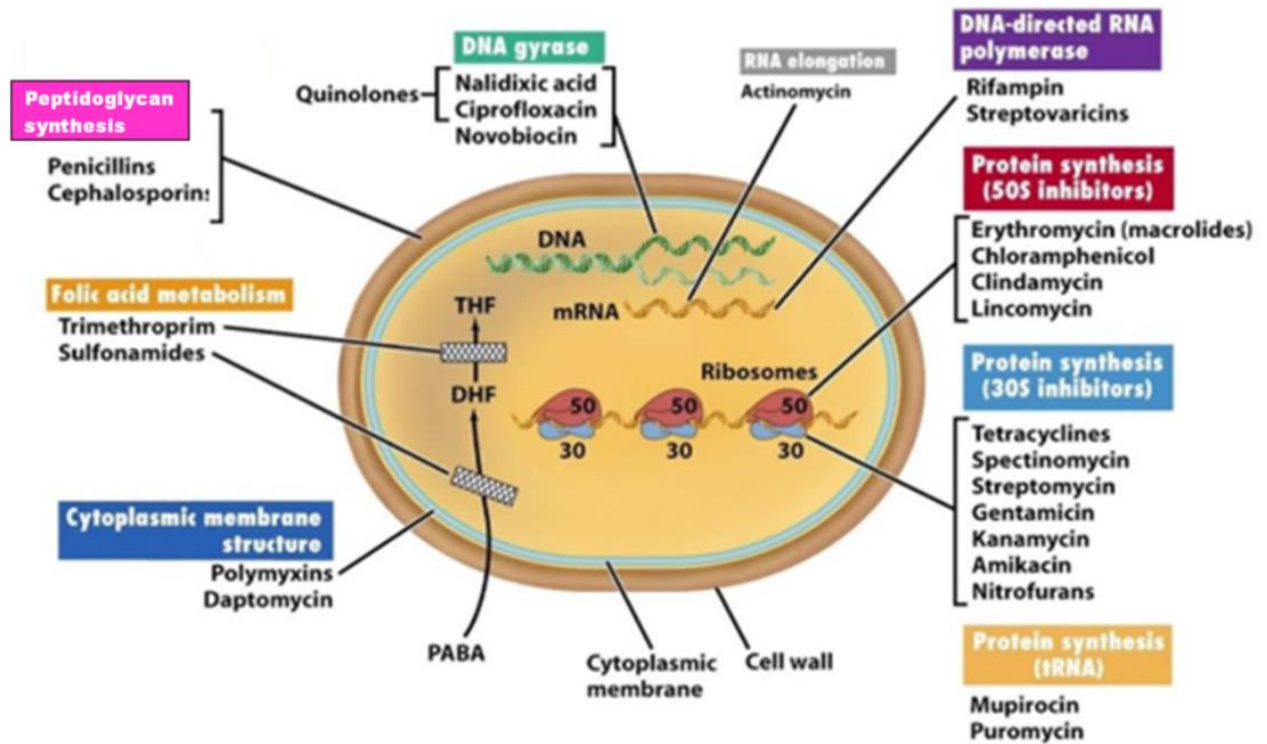
⇒ **Composition de la paroi de certaines archées**



Couche S : couche de protéines paracristalline

Source : Microbiologie Biologie des procaryotes et de leurs virus.
Luciano Paolozzi Jean-Claude Liébart, ed Dunod

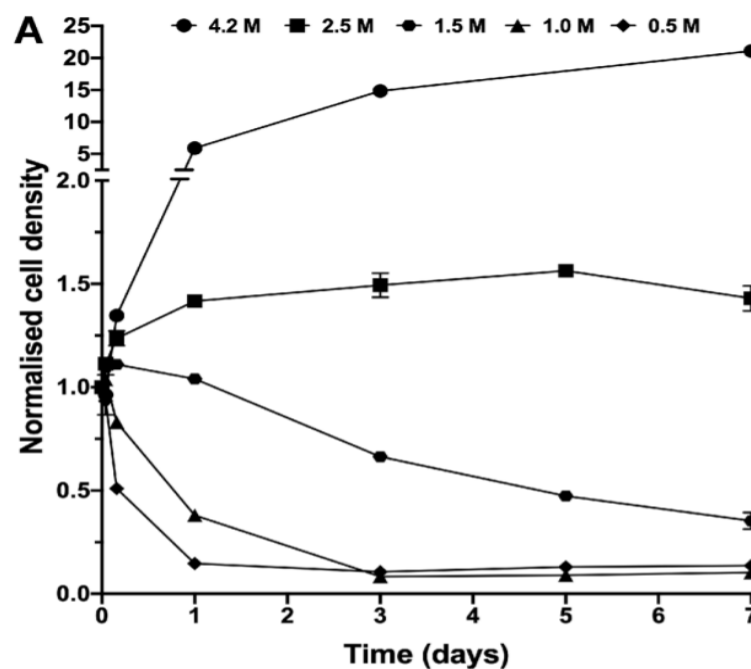
Document 6B : Site d'action de différents antibiotiques



Source : extrait de *Biology of Micro-organisms* 11^{ème} édition, 2006

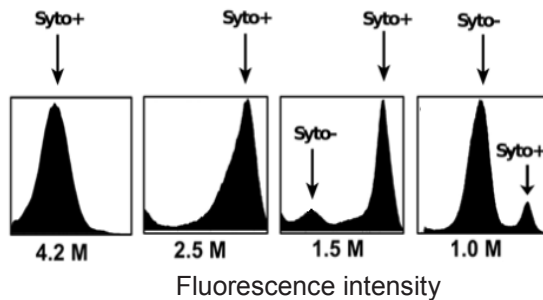
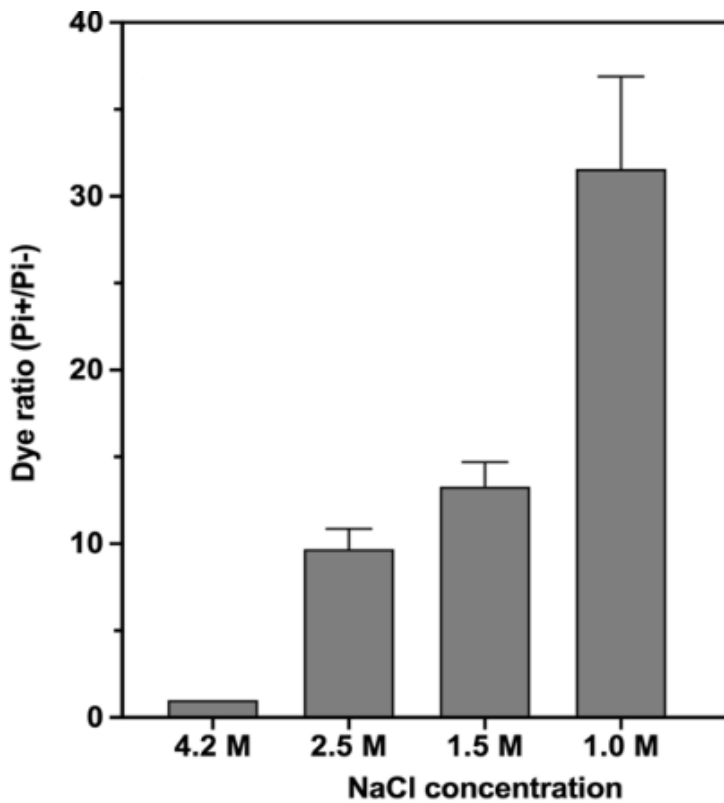
Document 7 : Densité cellulaire normalisée¹ d'*Halobacterium salinarum* en fonction du temps pour différentes concentrations en NaCl.

Les cellules cultivées préalablement dans du NaCl 4,2 M (contrôle) ont été récoltées puis cultivées ensuite à 37 °C dans un milieu en NaCl à 2,5 M, 1,5 M, 1,0 M et 0,5 M.



Source : "Surviving salt fluctuations: stress and recovery in *Halobacterium salinarum*, an extreme halophilic Archaeon Pierre Vauchere

Document 8 : Analyse par cytométrie de flux de l'intégrité de la membrane (marquage Pi) et des dommages causés à l'ADN (marquage Syto) des cellules d'*Halobacterium salinarum*.



The cells were incubated for 24 hours in standard growth medium (4.2M NaCl, control) or in low NaCl conditions (2.5M, 1.5M and 1.0M).

At the top, Pi+ (membrane integrity) cell populations detected at 645 nm (Pi).

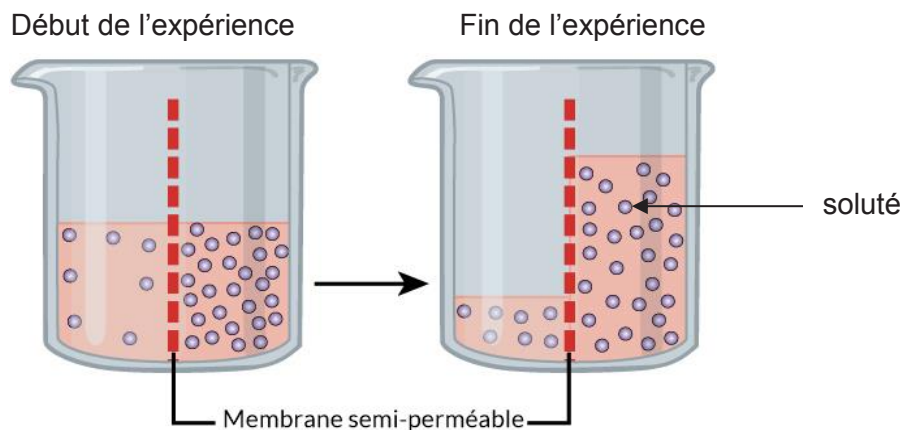
At the bottom, histograms of Syto9 (DNA labelling) staining showing changes in the fluorescence intensity (at 528 nm) of cells exposed to various salt concentrations.

Damaged (Syto-) and undamaged DNA (Syto+) populations are indicated by arrows.

Each experiment was carried out in triplicate. Errors bars represent standard errors.

Source : "Surviving salt fluctuations: stress and recovery in *Halobacterium salinarum*, an extreme halophilic Archaeon Pierre Vauclare

Document 9 : Illustration du phénomène de l'osmose à travers une membrane semi-perméable



Source : <https://fr.khanacademy.org/science/high-school-biology/hs-energy-and-transport/hs-osmosis-and-tonicity/a/hs-osmosis-and-tonicity-review>

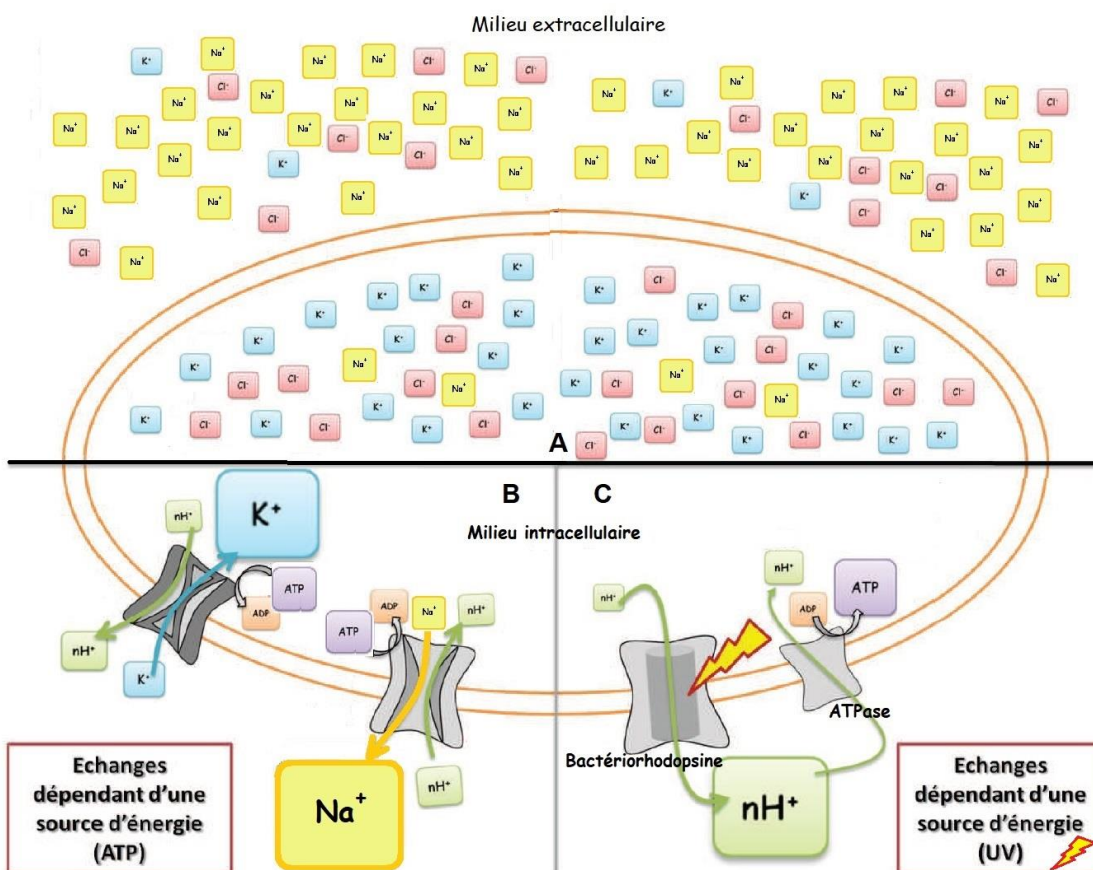
Document 10 : Composition de différentes eaux (douce, de mer, de lac...)

Composition ionique en mmol.L⁻¹ d'eau

ion	Eau douce de lac (lac Nipissing, Ontario)	Eau de mer (moyenne)	mer Morte (Israël)
Sodium	0,17	462	1577
Magnésium	0,15	53	1635
Calcium	0,22	10	388
Potassium	-	10	177
Chlorure	0,03	538	5735
Sulfate	0,09	28	4
Bicarbonate	0,43	2,3	3
Bromure	-	-	60

source: inspiré de *Physiologie animale* - Knut Schmidt-Nielsen

Document 11 : Représentation schématique de transporteurs membranaires de *Halobacterium salinarum* permettant le contrôle de l'osmolarité intracellulaire.



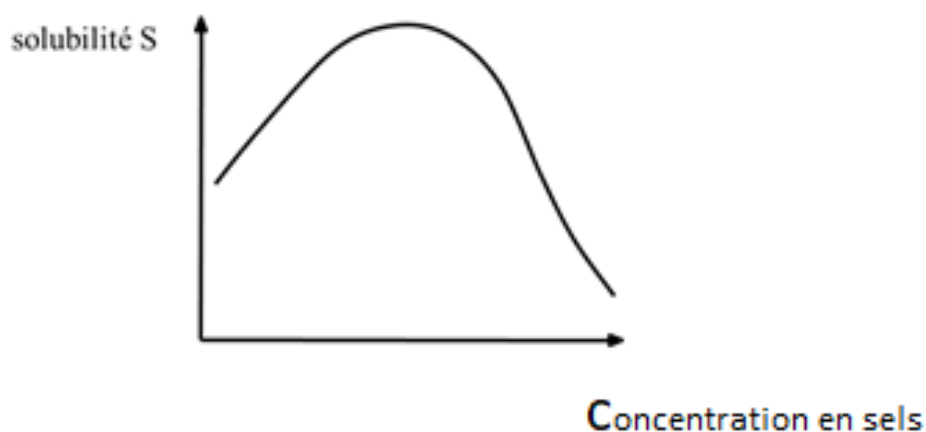
En **A**, représentation schématique de la localisation intracellulaire et extracellulaire des ions Na⁺, K⁺ et Cl⁻.

En **B**, transporteurs dont l'action dépend d'une source d'énergie chimique de type ATP.

En **C**, transporteurs dont l'action dépend d'une source d'énergie physique de type UV.

Source : inspiré de Vincent Marty. Adaptation de l'Archaea halophile *Halobacterium salinarum* aux stress environnementaux: mécanismes de survie et rôle de la protéolyse intracellulaire. *Biologie structurale [q-bio.BM]*. Université de Grenoble, 2011.

Document 12 : Solubilité des protéines en fonction de la concentration en sel



Document 13 : Les acides aminés

Document 13 A : Radicaux des 20 acides aminés

NOM	ABRÉVIATION	RADICAL (R)
Glycine	Gly	— H
Alanine	Ala	— CH ₃
Valine*	Val	$\begin{array}{c} \text{— CH — CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Leucine*	Leu	$\begin{array}{c} \text{— CH}_2\text{— CH — CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Isoleucine*	Ile	$\begin{array}{c} \text{— CH — CH}_2\text{— CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Tryptophane*	Try	
Méthionine*	Met	— CH ₂ —CH ₂ —S—CH ₃
Proline	Pro	 (molécule complète)
Phénylalanine*	Phe	— CH ₂ —

* Acides aminés essentiels devant provenir de l'alimentation

NOM	ABRÉVIATION	RADICAL (R)
Sérine	Ser	— CH ₂ —OH
Thréonine*	Thr	$\begin{array}{c} \text{— CH — OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Cystéine	Cys	— CH ₂ —SH
Tyrosine	Tyr	
Asparagine	Asn	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{— CH}_2\text{— C — NH}_2 \end{array}$
Glutamine	Gln	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{— CH}_2\text{— CH}_2\text{— C — NH}_2 \end{array}$
Acide aspartique	Asp	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{— CH}_2\text{— C — OH} \end{array}$
Acide glutamique	Glu	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{— CH}_2\text{— CH}_2\text{— C — OH} \end{array}$
Lysine*	Lys	— CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —CH ₂ —NH ₂
Arginine	Arg	$\text{— CH}_2\text{— CH}_2\text{— CH}_2\text{— NH — C — NH}_2 \\ \\ \text{NH}$
Histidine	His	

* Acides aminés essentiels devant provenir de l'alimentation.

Source : <http://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=54292&demande=desc>

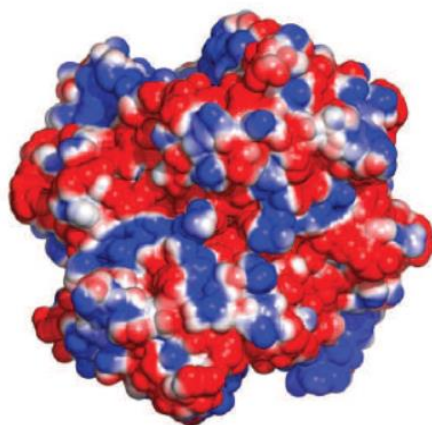
Document 13 B : Valeur des pK_{aR} des fonctions des chaînes latérales des acides aminés ionisables

	Arginine	Acide aspartique	Cystéine	Acide Glutamique	Histidine	Lysine	Tyrosine
pK_{aR}	12,5	3,9	8,3	4,3	6,0	10,5	10,1

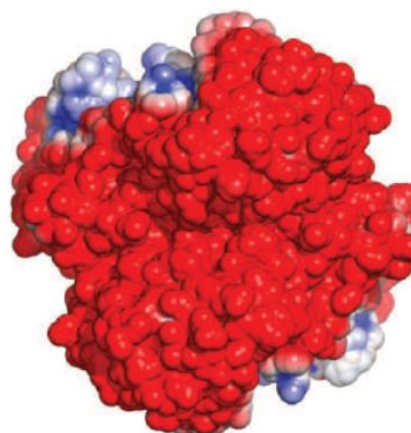
Document 14 : Comparaison de la surface électrostatique résultant de la composition en acides aminés acido-basiques de deux enzymes.

La malate déshydrogénase (MDH) de *Picrophilus torridus*, archée acidophile (à gauche) et de la MDH de *Haloferax volcanii*, archée halophile (à droite).

La surface électrostatique négative est représentée en rouge et positive en bleu.



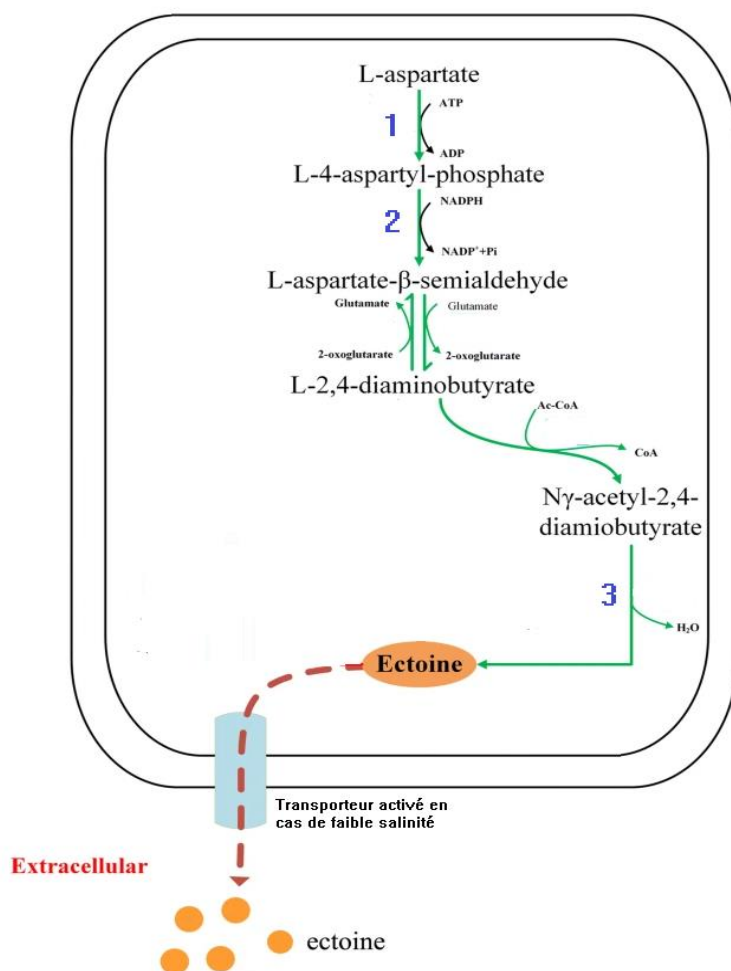
MDH de *Picrophilus torridus*
acidophile



MDH d'*Haloferax volcanii*
halophile

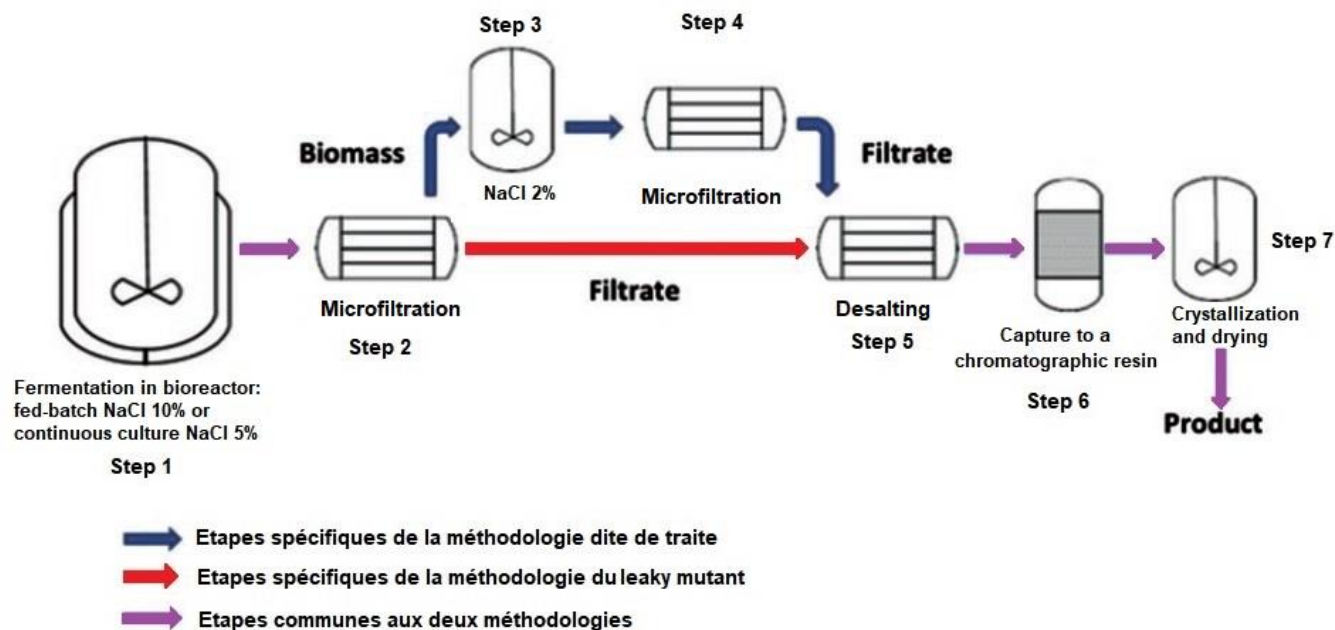
Source : Vincent Marty. *Adaptation de l'Archaea halophile Halobacterium salinarum aux stress environnementaux: mécanismes de survie et rôle de la protéolyse intracellulaire. Biologie structurale [q-bio.BM]. Université de Grenoble, 2011.*

Document 15 : Synthèse et devenir de l'ectoïne chez une bactérie halophile



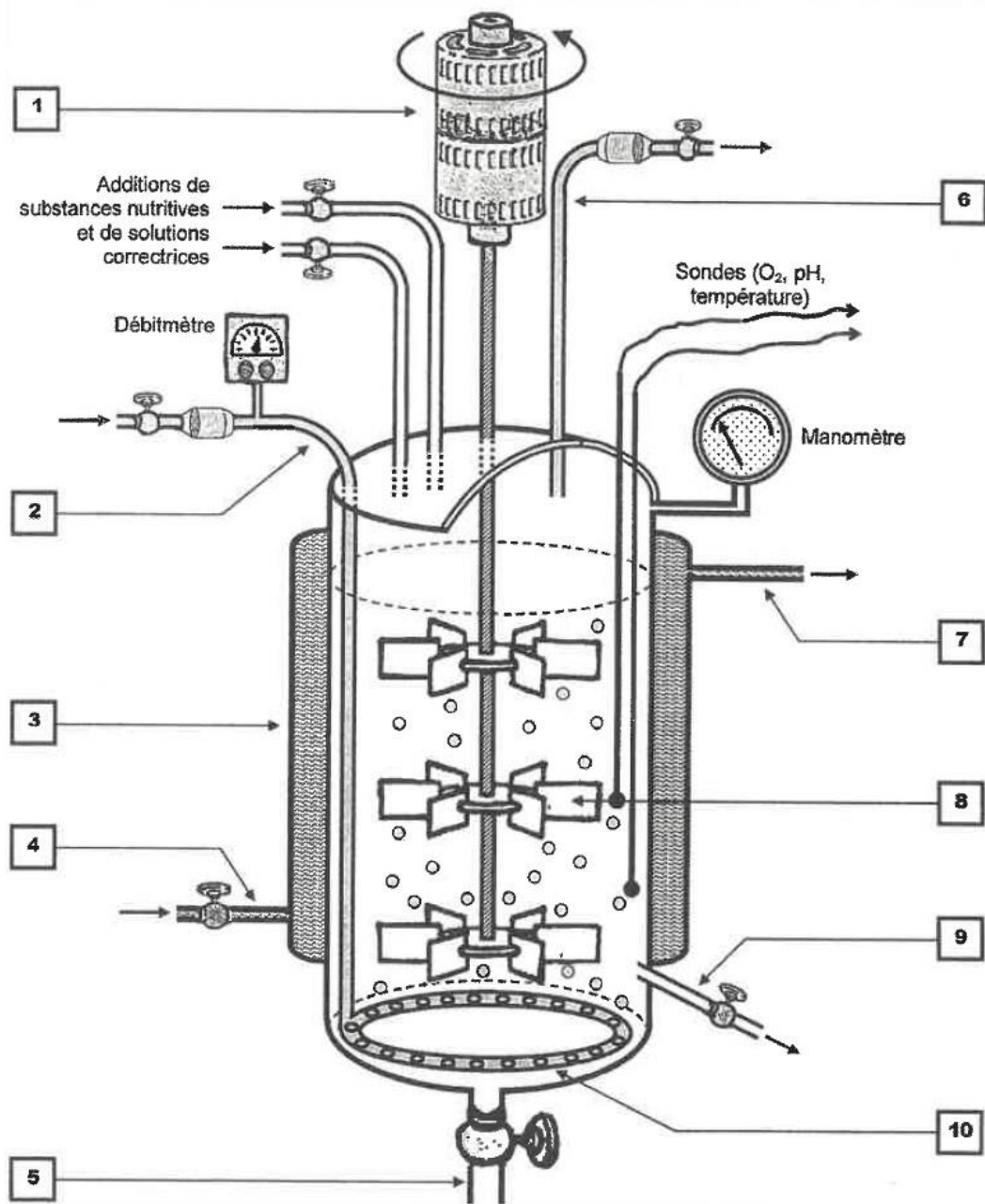
Source : inspiré de "High ectoine production by an engineered *Halomonas hydrothermalis*Y2 in a reduced salinity medium" Zhao et al. *Microb Cell Fact* (2019) 18:184

Document 16 : Procédés de production de l'ectoïne



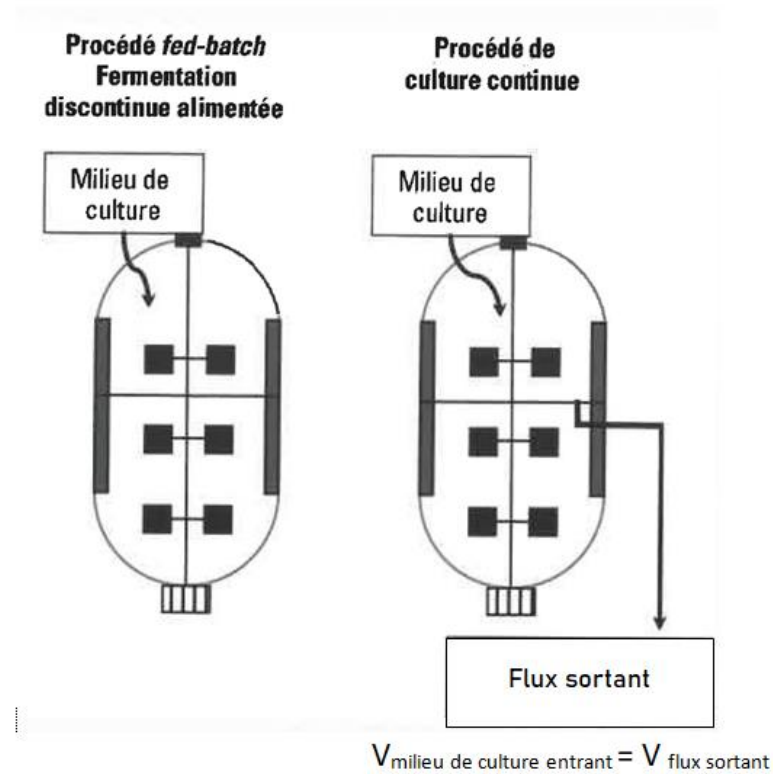
Source : Schéma réalisé d'après : www.researchgate.net/publication/263611706_Industrial_Production_of_the_Cell_Protectant_Ectoine_Protection_Mechanisms_Processes_and_Products

Document 17 : Schéma d'un bioréacteur



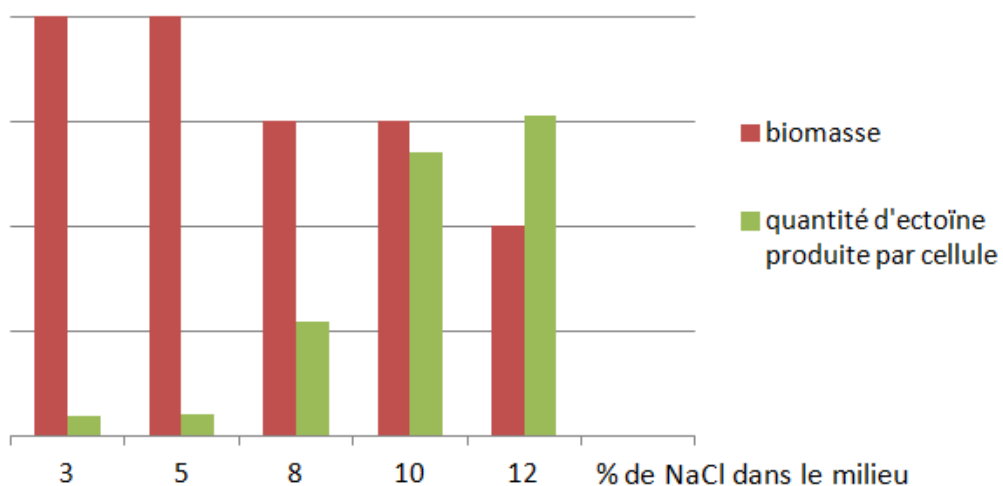
Source : *Opération unitaire en génie biologique - 3. La fermentation* - Pascal Chillet - collection Biotech - CRDP d'Aquitaine

Document 18 : Procédés industriels de production en bioréacteur



Source : Opération unitaire en génie biologique – 3. La fermentation – Pascal Chillet – collection Biotech – CRDP d'Aquitaine

Document 19 : Influence de la concentration en sel dans le milieu de culture sur la croissance d'*Halomonas elongata* et sa production intracellulaire d'ectoïne (taux comparatifs, sans valeur chiffrée).



NB : Au-delà de 12 % de sel, la bactérie peut se développer mais l'inox du bioréacteur étant sensible à la corrosion par le sel, la production d'ectoïne à ce taux n'a pas été testée.

Document 20 : Expérience de caractérisation d'une propriété de la souche mutée

On utilise une souche d'*E. coli* qui est inhibée à une concentration en NaCl de 5 % sauf si le milieu environnant contient de l'ectoïne. Cette souche possède une galactosidase capable d'hydrolyser le substrat X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside) et de libérer ainsi un composé bleu dans le milieu.

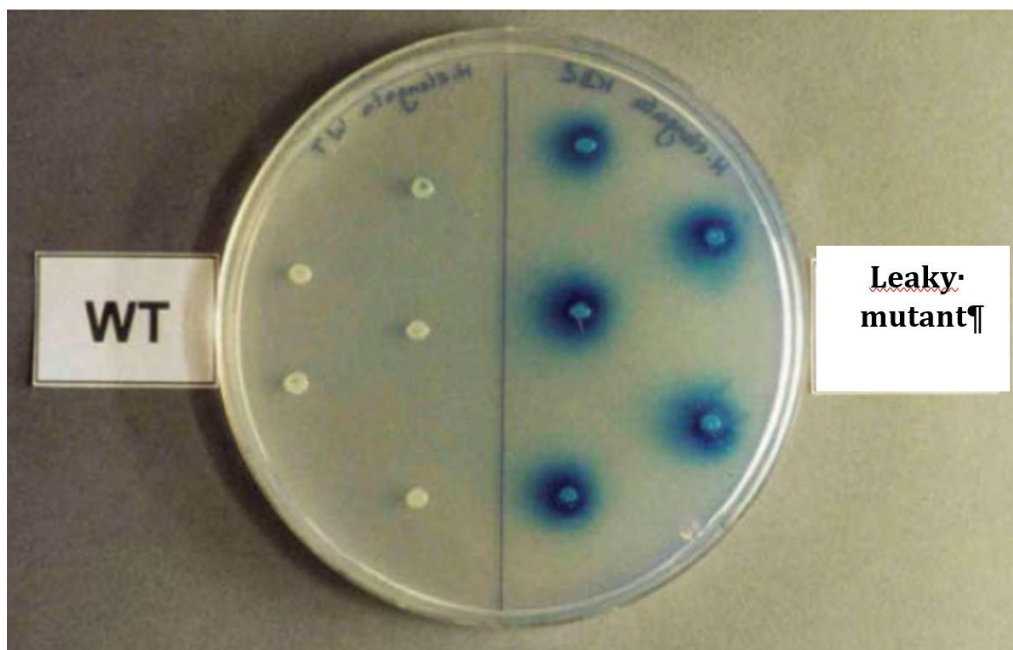
Source : D'après

https://www.researchgate.net/publication/263611706_Industrial_Production_of_the_Cell_Protectant_Ectoïne_Protection_Mechanisms_Processes_and_Products

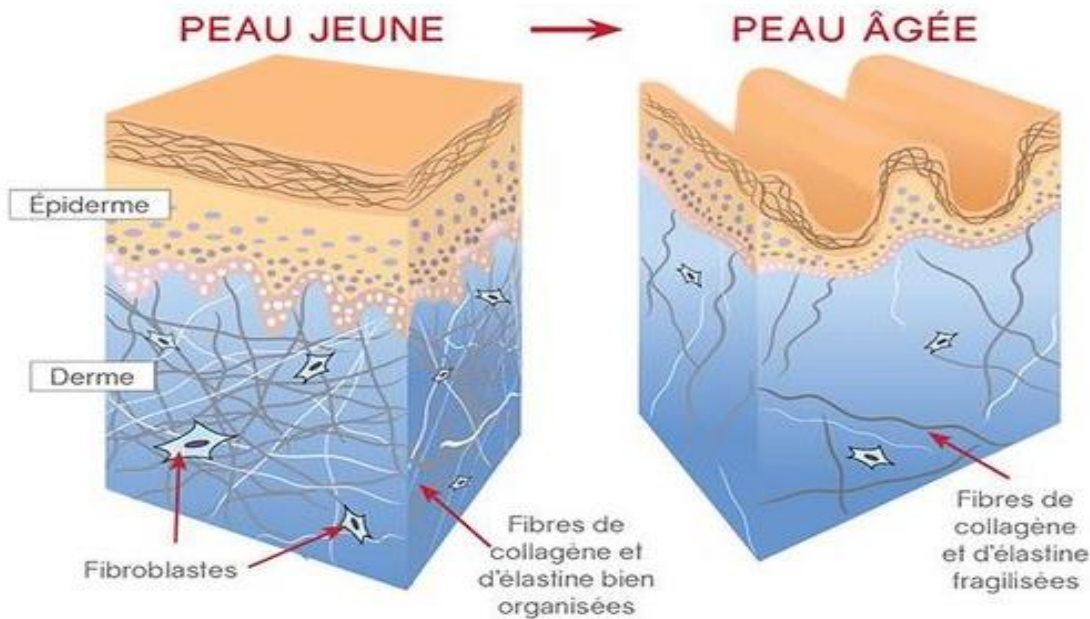
Procédure opératoire :

- La souche d'*E. coli* est ensemencée en nappe sur un milieu gélosé minimum contenant du X-gal et 900 mmol.L⁻¹ de NaCl, soit environ 5 %.
- La gélose est divisée en deux : la souche sauvage d'*H. elongata* « WT » et la souche mutée «leaky mutant », sont respectivement ensemencées en spot sur une moitié de gélose.
- La gélose est incubée 48h à 37 °C.

Photographie des résultats obtenus :

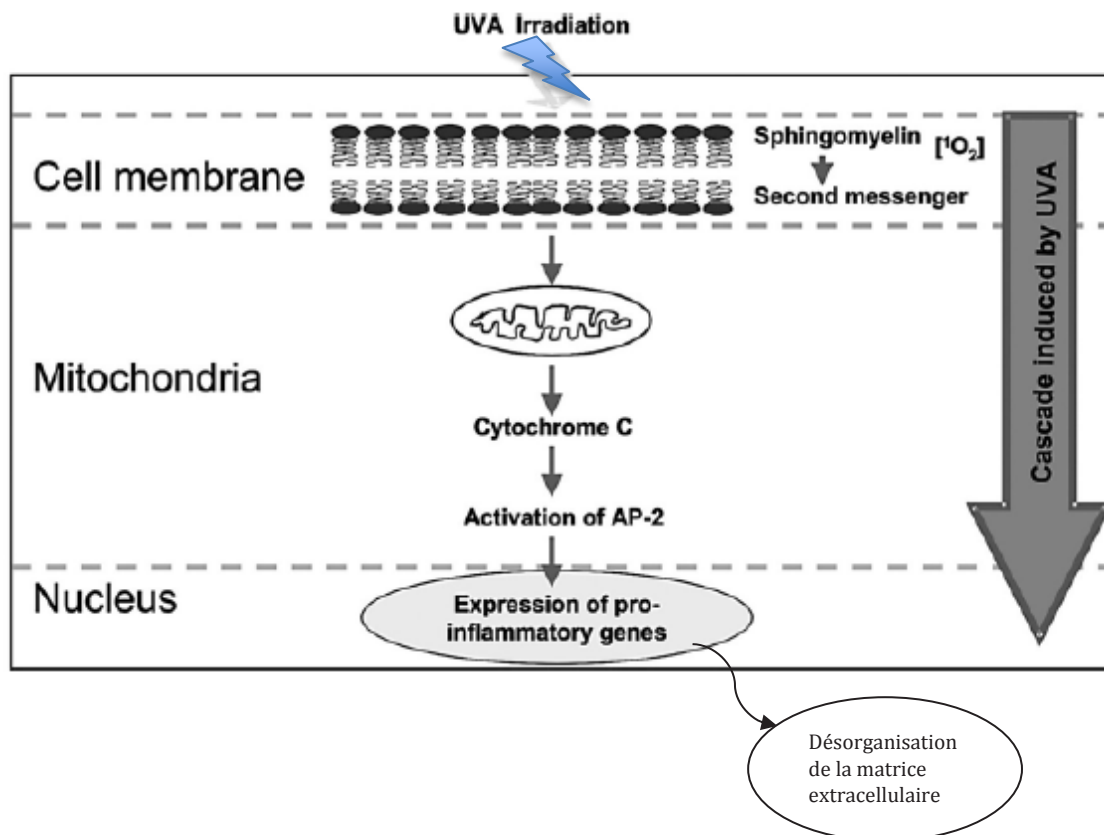


Document 21 : Comparaison de coupes de peau.



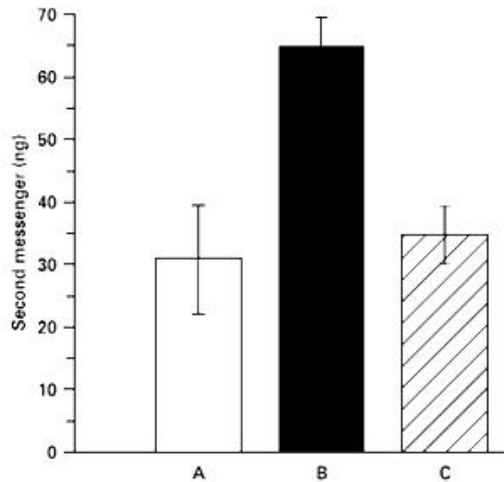
Source : <http://www.longlonglife.org>

Document 22 : Modèle présentant les conséquences des UV-A sur les cellules de la peau.



Source : Ectoin: An Effective Natural Substance to Prevent UVA-Induced Premature Photoaging J. Buenger

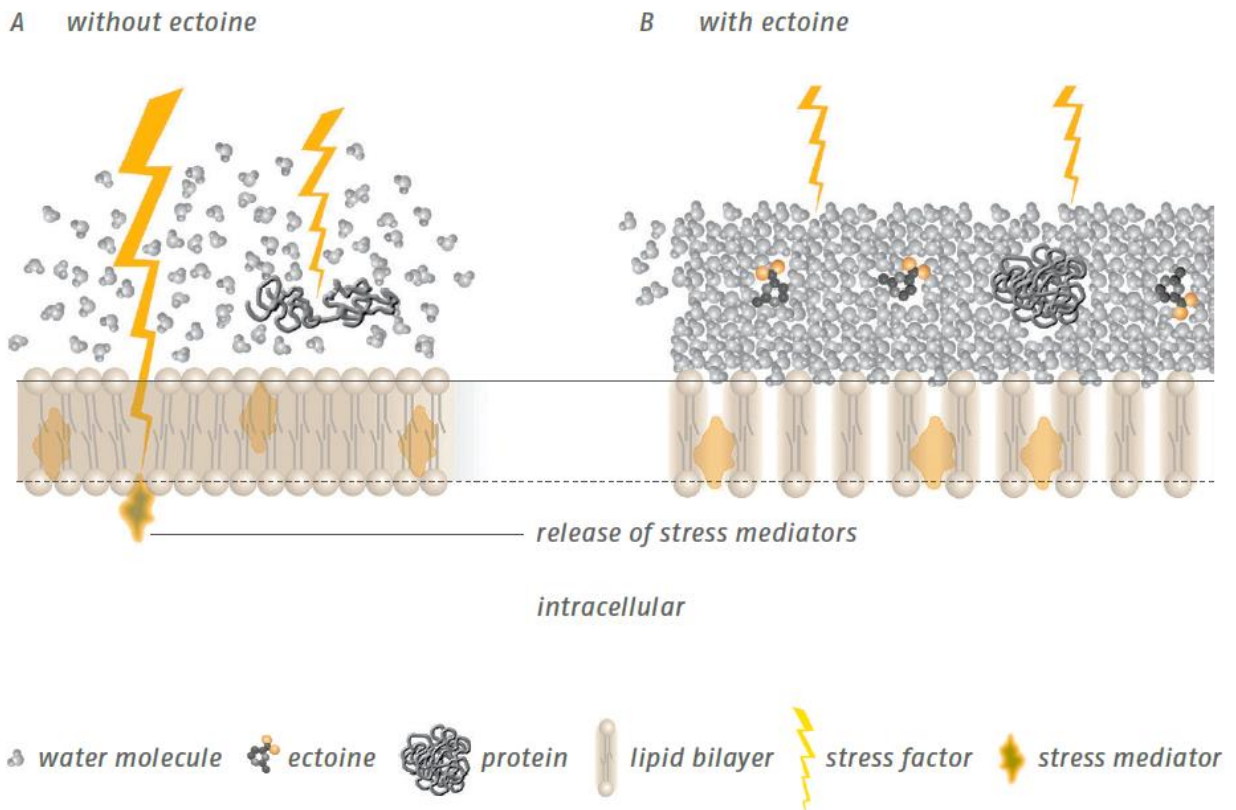
Document 23 : Etude de l'effet protecteur de l'ectoïne sur des cultures de kératinocytes



UVA-induced second messenger (ceramides split off membranal sphingomyelin) release (ng) as a function of different treatments from three independent experiments: A = untreated and non-irradiated control, B = untreated, irradiated with 30 J/cm² and C = pretreated for 24 h with 1 mM Ectoin and irradiated with 30 J/cm². Data given as mean ± SD of released second messenger.

Source : Ectoin: An Effective Natural Substance to Prevent UVA-Induced Premature Photoaging J. Buenger

Document 24 : Modélisation des effets de l'ectoïne sur les kératinocytes.



Source : <https://www.bitop.de>

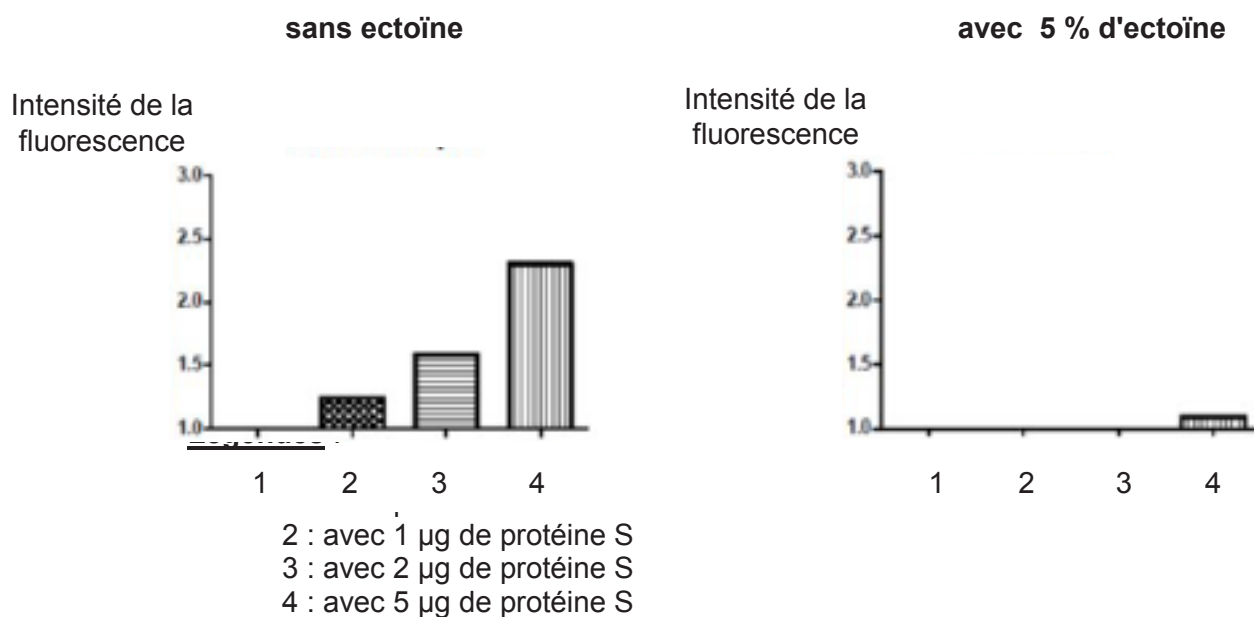
Document 25 : Description de l'expérience menée pour l'étude de l'influence de l'ectoïne sur le Sars-Cov2

Mode opératoire :

- Des cellules pulmonaires A549 présentant le récepteur de la protéine S, sont mises en contact avec la protéine S du virus, à différentes concentrations (légendes 1-2-3- et 4 de l'axe des abscisses).
- Après plusieurs lavages, les cellules sont incubées avec un anticorps murin dirigé contre la protéine S.
- Après une deuxième série de lavages, les cellules sont incubées avec le conjugué, anticorps anti globuline marqué par le fluorochrome alexafluor.
- La fluorescence des cellules est ensuite mesurée par cytométrie de flux.

Les différentes concentrations en protéine S sont testées sur les cellules pulmonaires en absence et en présence de 5 % d'ectoïne.

Document 26 : résultats de l'étude de l'effet potentiel de l'ectoïne sur la fixation du virus sur les cellules pulmonaires A549



Source : <https://www.bitop.de>