

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2020

CBSV : sous épreuve coefficient 4
Biotechnologies : sous épreuve coefficient 4

LUNDI 22 JUIN 2020

Durée totale de l'épreuve : 4 heures

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités
sur des copies séparées.**

Dès que les sujets vous sont remis, assurez-vous qu'ils sont complets.

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

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialités :

- **Biotechnologies**
- **Sciences physiques et chimie en laboratoire**

SESSION 2020

Lundi 22 juin 2020

Sous-épreuve écrite de Chimie – biochimie – sciences du vivant

Coefficient de cette sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de spécialité seront traités
sur des copies séparées.**

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

Ce sujet comporte **11** pages.

Partie 1 : pages 2 à 5

Partie 2 : pages 6 à 11

Les 2 parties sont indépendantes.

La maladie provoquée par le virus Zika

Partie I : le virus Zika (8 points)

Le virus Zika est un virus enveloppé à ARN, principalement transmis par les moustiques du genre *Aedes*.

Ce virus a été détecté pour la première fois en 1947 en Ouganda et les premiers cas d'infection chez l'être humain ont été recensés en 1952. Depuis, le virus a gagné les continents asiatique et américain avec notamment une épidémie importante au Brésil en 2015.

L'objectif de cette partie est d'étudier l'organisation générale du virus Zika.

Le **document A** apporte des informations sur la structure du virus Zika.

Le tableau du **document B** présente certaines caractéristiques de l'organisation des virions de quelques familles de virus pathogènes pour l'être humain.

- 1.1. À l'aide du **document A**, identifier sur la copie les composants **1 à 5** du virion.
- 1.2. En utilisant les données des **documents A et B**, indiquer le nom de la famille du virus Zika. Justifier votre réponse.

La protéine E de l'enveloppe du virus Zika est une glycoprotéine, c'est-à-dire une protéine liée à une ou plusieurs molécules glucidiques.

- 1.3. Nommer, d'une part, le monomère (molécule élémentaire) constitutif d'une chaîne polypeptidique et, d'autre part, celui d'un polymère glucidique.

Le **document C** présente la structure tridimensionnelle d'un complexe protéique inséré dans l'enveloppe virale. **Dans ce document**, sont représentés des hélices α et des feuillets β , motifs constitutifs de la structure secondaire de cette protéine.

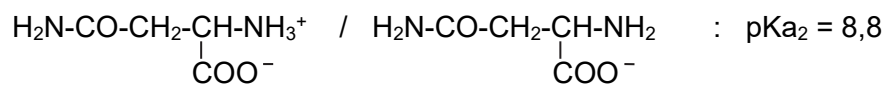
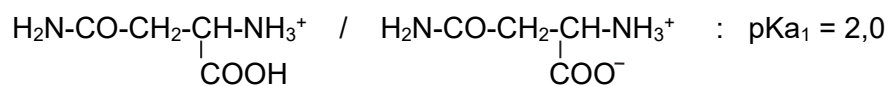
- 1.4. Citer le type le plus fréquent d'interactions favorisant la stabilisation des hélices α et des feuillets β .

Pour de nombreuses glycoprotéines, la molécule glucidique est fixée à la chaîne polypeptidique grâce à une liaison covalente entre un résidu de L-asparagine et une molécule dérivée du glucose, la N-acétyl-D-glucosamine.

Le **document D** présente la structure de ces deux molécules.

- 1.5. Recopier, sur la copie, la représentation de Fischer de la molécule 1 du **document D**. Repérer les atomes de carbone asymétriques par un astérisque (*).
- 1.6. Sur la molécule recopiée précédemment, entourer et nommer deux fonctions chimiques différentes.
- 1.7. Justifier l'appartenance à la série D de la molécule 1 du **document D**.

L'asparagine appartient à deux couples acide/base :



1.8. Donner la forme prédominante de l'asparagine dans le sang (à environ pH = 7). Justifier la réponse.

Les molécules 1 et 2 réagissent pour donner les molécules 3 et 4 (**document D**).

1.9. Identifier les atomes des molécules 1 et 2 impliqués dans la liaison covalente apparue lors de la réaction.

1.10. Donner la formule brute et le nom de la molécule 4 produite.

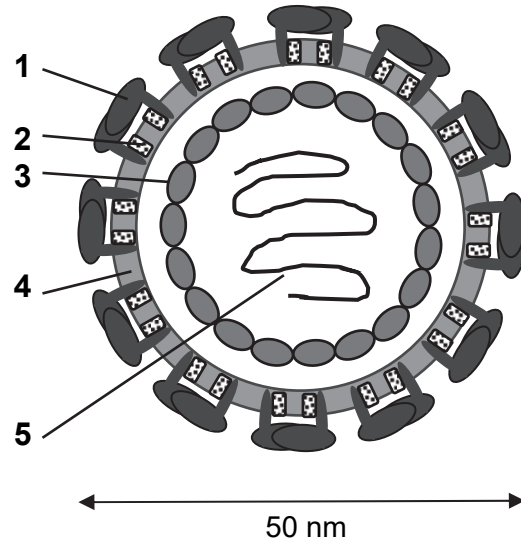
DOCUMENTS

Document A : organisation générale du virus Zika

Le virus Zika est un virus enveloppé dont le génome est une molécule d'ARN simple brin d'environ 11000 nucléotides.
 Le génome viral est entouré d'une capsidie icosaédrique qui est, elle-même, entourée d'une enveloppe comprenant la protéine E et la protéine M.
 La protéine M est entièrement insérée dans la membrane lipidique.
 L'essentiel de la protéine E est exposée à la surface du virion ; seule une petite partie est insérée dans la membrane lipidique.

d'après D. Sirohi et col., Science 352 (6284), 467-470 (2016)

Schéma du virion



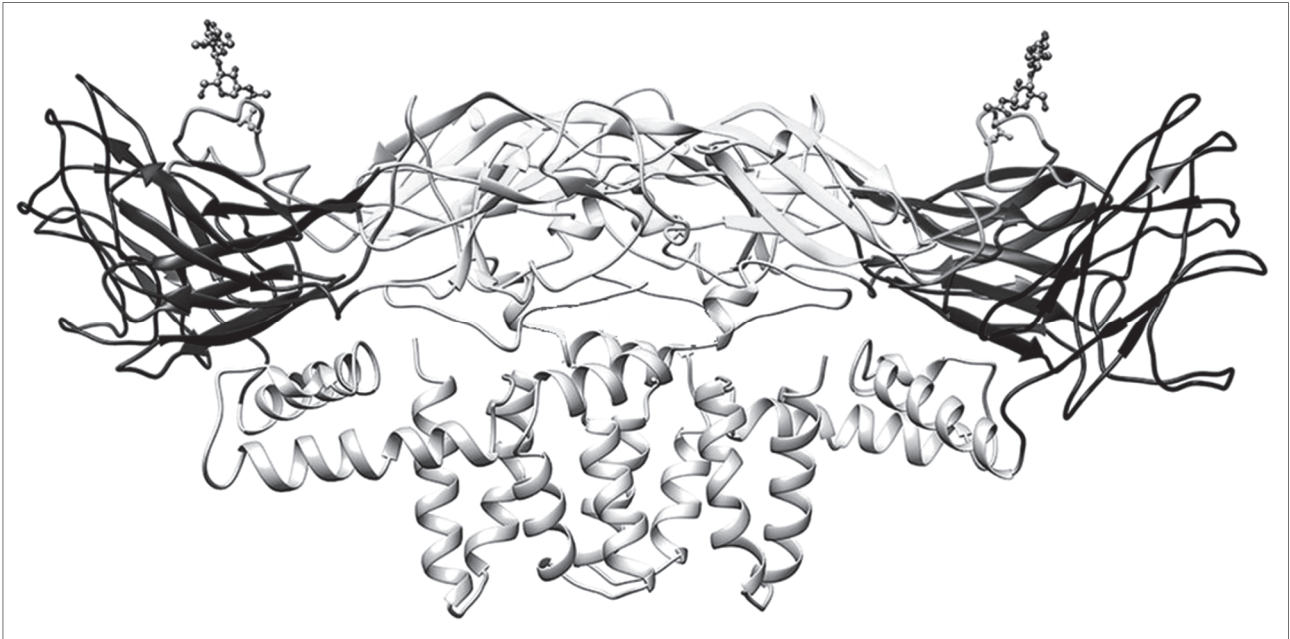
Document B : quelques caractéristiques de différentes familles de virus d'importance médicale

Famille	Forme de la capsidie	Présence d'une enveloppe	Génome sb : simple brin db : double brin	Taille (nm)
<i>Parvoviridae</i>	Icosaédrique	non	ADN sb linéaire	18-20
<i>Papillomaviridae</i>	Icosaédrique	non	ADN db circulaire	45-55
<i>Adenoviridae</i>	Icosaédrique	non	ADN db linéaire	70-90
<i>Herpesviridae</i>	Icosaédrique	oui	ADN db linéaire	150-200
<i>Picornaviridae</i>	Icosaédrique	non	ARN sb linéaire	28-30
<i>Reoviridae</i>	Icosaédrique	non	ARN db linéaire	70-80
<i>Flaviviridae</i>	Icosaédrique	oui	ARN sb linéaire	40-50

Tony Hart et Paul Shears, Atlas de poche de microbiologie, Flammarion Médecine-Sciences

Document C : structure tridimensionnelle d'un complexe protéique de l'enveloppe du virus Zika

Ce complexe protéique résulte de l'association de deux molécules de protéine E et de deux molécules de protéine M.



D. Sirohi et col., Science 352 (6284), 467-470 (2016)

Document D : représentations de la N-acétyl-D-glucosamine et du résidu de la L-asparagine dans la chaîne polypeptidique

molécule 1 : N-acétyl-D-glucosamine		molécule 2 : résidu de la L-asparagine
Représentation de Haworth	Représentation de Fischer	

Produits de la réaction entre les molécules 1 et 2	
	<p>molécule 4</p>

Partie II : la maladie provoquée par le virus Zika et ses potentielles complications (12 points)

La majorité des personnes infectées par le virus Zika ne développe aucun symptôme. Dans les autres cas, la personne infectée peut présenter des symptômes d'un état grippal (fièvre, maux de tête, douleurs musculaires...) et des éruptions cutanées.

Les complications observées suite à l'infection par le virus Zika sont peu fréquentes mais sévères car il s'agit d'atteintes neurologiques. Ainsi, lors de l'épidémie de 2015 ayant tout particulièrement touché le Brésil, un lien a été fait entre, d'une part, l'infection par le virus Zika et le syndrome de Guillain-Barré qui touche les adultes et, d'autre part, l'infection par le virus Zika et la microcéphalie qui touche les nouveau-nés contaminés par leur mère durant la vie fœtale.

L'objectif de cette partie est d'étudier certains paramètres de l'infection par le virus Zika et ses complications puis un moyen de prévention de cette maladie.

L'infection par le virus Zika

La contamination est le plus souvent due à la piqûre d'un moustique porteur du virus Zika. On cherche à vérifier si le virus Zika peut se multiplier dans des cellules de la peau.

Le **document E** présente une photographie d'une coupe transversale de peau observée au microscope optique.

- 2.1** À l'aide du **document E**, identifier et nommer sur la copie un tissu conjonctif et un tissu épithélial de la peau.

Le **document F** présente les résultats d'une expérience ayant pour but d'identifier d'éventuelles cellules cibles du virus Zika.

- 2.2** Interpréter les observations présentées dans le **document F.a** et conclure.
- 2.3** Analyser des données du **document F.b** et conclure.
- 2.4** À l'aide du **document E** et des réponses aux questions précédentes, indiquer si le virus Zika peut se multiplier dans des cellules de la peau.

Le virus Zika et la microcéphalie chez la souris

Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), la microcéphalie est une malformation néonatale définie par une taille de la tête beaucoup plus petite que celle des autres nouveau-nés de même âge et de même sexe. Elle s'accompagne d'une croissance insuffisante du cerveau.

Le **document G** présente les résultats d'expériences cherchant à mesurer les effets d'une infection par le virus Zika sur le développement fœtal chez la souris.

- 2.5** À l'aide du **document G**, préciser l'impact du virus Zika sur le cortex des souriceaux nés de femelles infectées.

La vaccination comme moyen de prévention de la maladie à virus Zika

La vaccination est un moyen de prévention efficace contre de nombreuses maladies infectieuses. Un vaccin contre la maladie à virus Zika pourrait être très utile dans les zones géographiques où se développent les moustiques *Aedes* porteurs de ce virus.

Un vaccin potentiellement efficace permet le développement d'une immunisation dirigée contre les protéines de l'enveloppe du virus. Différentes préparations vaccinales sont testées.

Le **document H** présente une approche possible pour l'élaboration d'un vaccin dirigé contre le virus Zika.

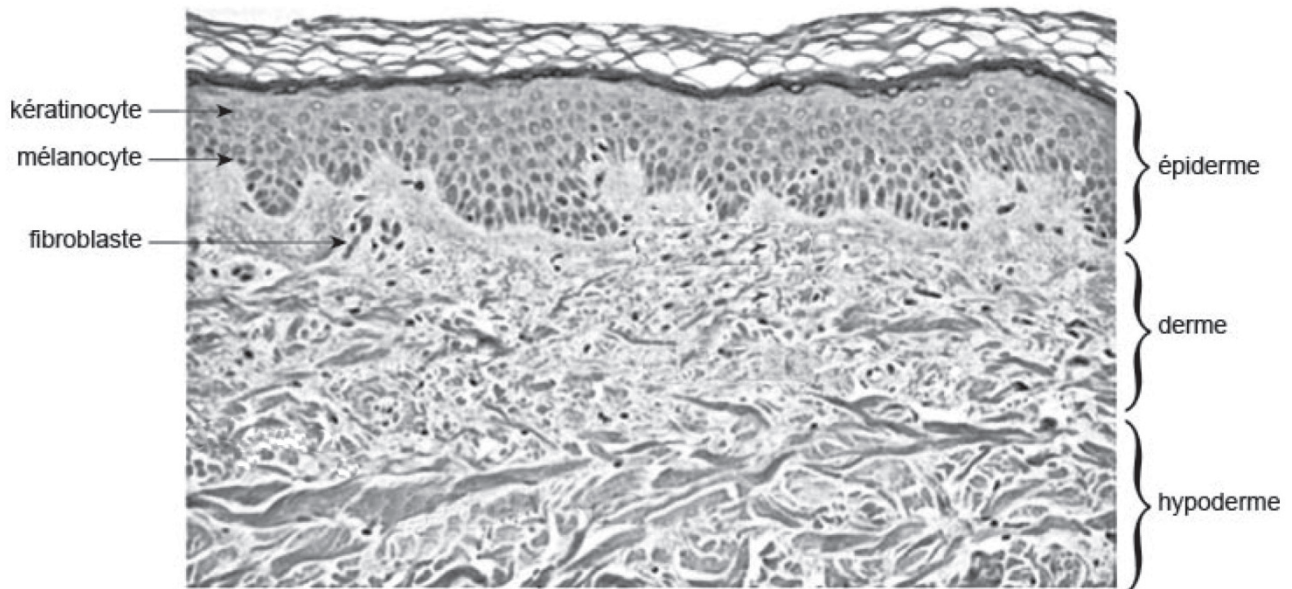
- 2.6** Proposer une hypothèse pour expliquer que le vaccin présenté dans le **document H** permet une immunisation dirigée contre les protéines de l'enveloppe virale.

Le **document I** présente les résultats de l'essai d'une autre préparation vaccinale contre le virus Zika chez le singe.

- 2.7** À partir de l'analyse du **document I**, montrer que les résultats obtenus avec la préparation **VRC5283** permettent d'envisager le développement d'un vaccin contre le virus Zika.
- 2.8** Indiquer puis expliquer la caractéristique du système immunitaire observable dans le **graphique 2 du document I** à l'origine du principe de la vaccination.

DOCUMENTS

Document E : photographie d'une coupe transversale de peau observée au microscope optique (x 100)



Source : University of Iowa

Document F : recherche de cellules cibles du virus Zika
D'après R. Hamel et col., *J. Virol.* 89 (17), 8880-8894 (2015)

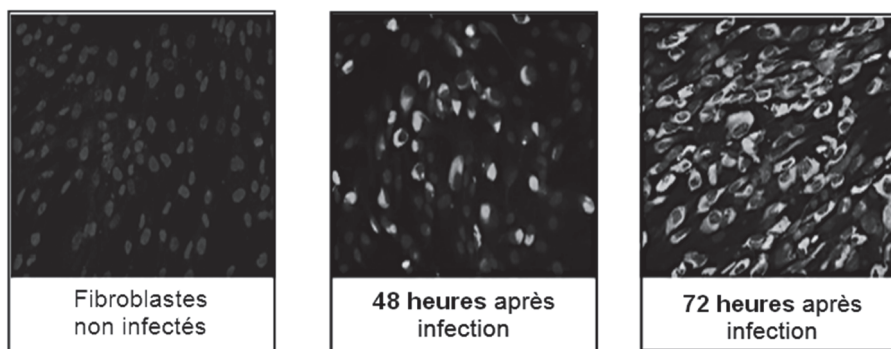
Les cellules utilisées dans cette expérience sont des fibroblastes et des kératinocytes.

Étape 1 : mise en culture de chaque type de cellules dans un milieu de culture et des conditions adaptées.

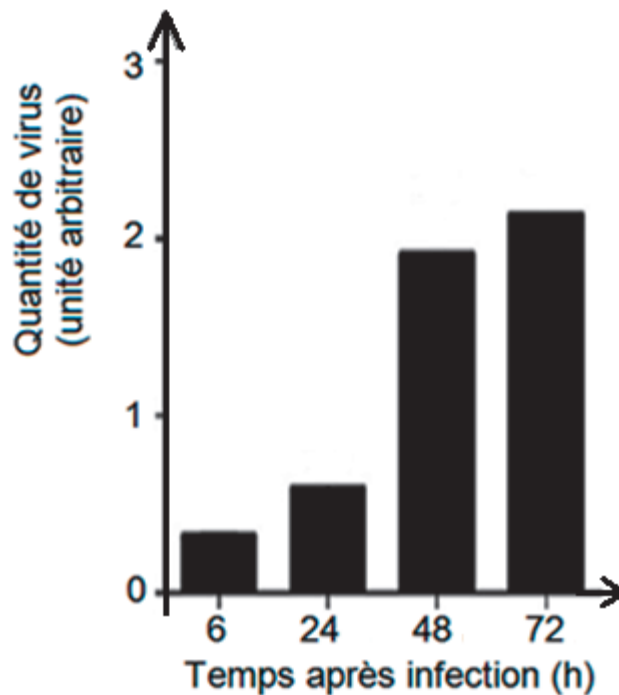
Étape 2 : infection des cellules par ajout, dans le milieu de culture, d'une quantité donnée de virions ; incubation puis élimination des virions par lavage.

Étape 3 : observation et analyse de chaque type de cellules (**documents F.a et F.b**).

F.a : photographies de l'observation des **fibroblastes** à l'aide d'un microscope à fluorescence. Après 48 heures ou 72 heures post-infection, les cellules sont incubées en présence d'un anticorps spécifique d'une protéine de l'enveloppe virale et couplé à une molécule fluorescente. Les cellules ayant fixé l'anticorps apparaissent en **blanc**.



F.b : détermination de la quantité de virus pour un même nombre de **kératinocytes** (6, 24, 48 et 72 heures) après l'infection.



Document G : effets du virus Zika sur le développement fœtal chez la souris

F.R. Cugola et col., Nature 534 (6309), 267-271 (2016)

Dans cette expérience, des souris femelles en gestation sont infectées par le virus Zika. Les cortex des souriceaux nés de ces souris infectées sont comparés à ceux de souriceaux nés de souris placées dans les mêmes conditions de gestation, mais non infectées.

Les résultats sont présentés ci-dessous.

G.a : quantités comparées de cellules dans le cortex des souriceaux

Le cortex est la partie du cerveau constituée de la zone périphérique des deux hémisphères cérébraux.

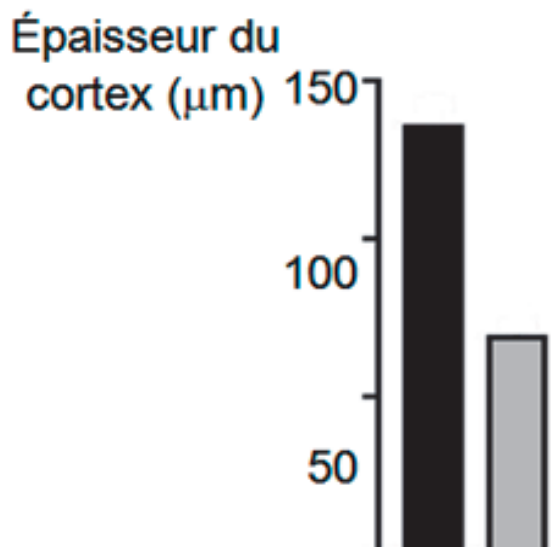
La quantité comparée de cellules du cortex a été déterminée en distinguant deux zones : la couche superficielle (**cortex superficiel**) et la couche profonde (**cortex profond**).

Souriceaux nés de mères non infectées		Souriceaux nés de mères infectées	
% de cellules dénombrées		% de cellules dénombrées	
Cortex superficiel	Cortex profond	Cortex superficiel	Cortex profond
100 %	100 %	45 à 55 %	8 à 10 %

G.b : mesures de l'épaisseur du cortex de souriceaux

Légende :

■	Souriceaux nés de mères non infectées
■	Souriceaux nés de mères infectées par le virus Zika



Document H : un vaccin à l'essai contre le virus Zika

D'après E. Abdoun, *Sciences et vie* (2017)

Un nouveau vaccin contre le virus Zika très prometteur vient de faire ses preuves sur des animaux. Il a protégé 100 % des 19 souris et 5 macaques auxquels le virus a par la suite été inoculé, et cela sans aucun effet secondaire apparent. Des essais cliniques sur l'être humain pourraient donc démarrer prochainement.

Ce vaccin repose sur l'injection dans l'organisme d'ARN messager viral permettant l'expression de protéines d'enveloppe virale. Cette technique comporte plusieurs avantages par rapport à d'autres vaccins en développement. Notamment, « *les vaccins à ARN présentent moins de risque de provoquer des effets secondaires que les vaccins à ADN* » affirme Drew Weissman, directeur de recherche à l'Université de Pennsylvanie.

Document I : essai d'un vaccin contre le virus Zika chez le singe (macaque Rhésus)

d'après K.A. Dowd et col., *Science* 354, 237-240 (2016)

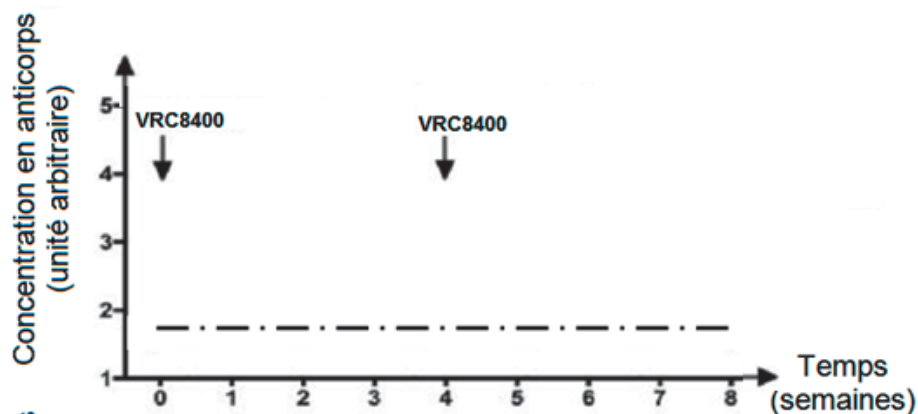
Dans cette expérience, des macaques Rhésus reçoivent en deux injections :

- soit une préparation témoin ne contenant aucune molécule qui puisse déclencher une immunisation contre le virus Zika (préparation **VRC8400**),
- soit le vaccin à tester dont on cherche à mesurer l'efficacité (préparation **VRC5283**).

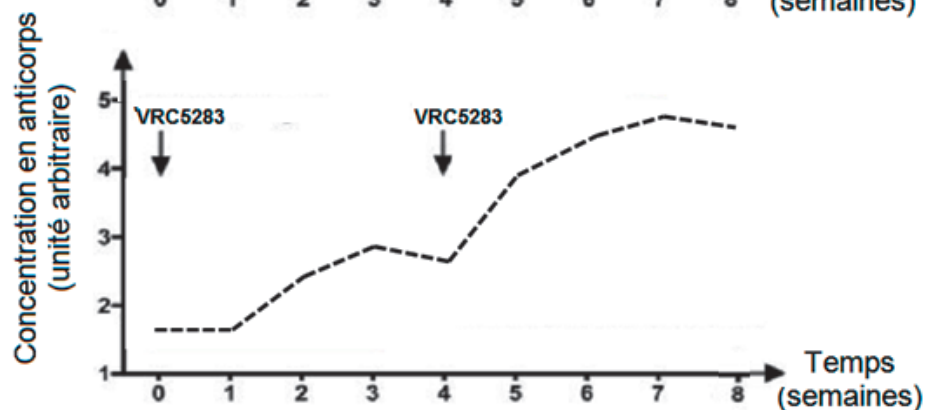
Dans les deux cas, deux injections de 4 mg de préparation sont effectuées aux semaines 0 et 4. Une mesure de la concentration plasmatique en anticorps capables de reconnaître le virus Zika est réalisée chaque semaine.

Légende : ↓ Injections des préparations

Graphique 1



Graphique 2



BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2020

LUNDI 22 JUIN 2020

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités sur des copies séparées.

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

Ce sujet comporte **9** pages.

Compétences évaluées					
C1 Extraire une information	C2 Analyser un document	C3 Expliquer une démarche	C4 Argumenter une réponse	C5 Construire une synthèse	C6 S'exprimer à l'écrit
3 points	5 points	3 points	5 points	3 points	1 point

OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE BIOÉTHANOL DE 2^E GÉNÉRATION

Les biocarburants, comme le bioéthanol, sont des combustibles obtenus à partir de matières organiques ou de biomasse.

Dans le cas des biocarburants de 2^e génération, la biomasse est de nature ligno-cellulosique et provient de déchets végétaux issus de l'agriculture destinée à l'alimentation humaine et animale. Ainsi les déchets issus de l'exploitation de la canne à sucre, appelés « bagasse », peuvent être valorisés à l'aide d'un procédé utilisant notamment des enzymes cellulolytiques issues d'une moisissure, *Trichoderma citrinoviride*.

Afin d'être plus concurrentielle, une entreprise de la filière des biocarburants demande à son département Recherche et développement (R & D) de lancer une étude visant à augmenter les rendements et diminuer les coûts de production d'éthanol d'origine biologique.

Pour cela, le département R & D étudie le procédé de production de bioéthanol selon trois axes :

- optimiser les conditions de culture de la moisissure *Trichoderma citrinoviride* pour une production optimale des enzymes cellulolytiques ;
- étudier l'efficacité et la stabilité des enzymes cellulolytiques dans les conditions de transformation de la bagasse ;
- optimiser le rendement de production d'éthanol lors de l'étape de fermentation.

1. ÉTUDE DU PROCÉDÉ DE PRODUCTION DU BIOÉTHANOL

Plusieurs étapes sont nécessaires à la production du bioéthanol.

La biomasse ligno-cellulosique est d'abord traitée chimiquement pour éliminer la lignine et libérer la cellulose et l'hémicellulose. Ces polymères sont hydrolysés en glucose et xylose par des enzymes cellulolytiques extraites de moisissures qui les produisent naturellement. Il s'agit de cellulases, de β -glucosidases et de xylanases. Les oses produits sont finalement fermentés en éthanol par des levures.

Q1. Construire un logigramme représentant la succession de chaque étape du procédé de production du bioéthanol à partir de bagasse de canne à sucre, tel que présenté ci-dessus.

2. ÉTUDE DE L'AMÉLIORATION DES CONDITIONS DE CULTURE DE *TRICHODERMA CITRINOVIRIDE* POUR UNE PRODUCTION OPTIMALE DES ENZYMES CELLULOLYTIQUES

L'espèce *Trichoderma citrinoviride*, moisissure ubiquitaire symbiotique des plantes, est très utilisée dans le milieu industriel. Elle sécrète des enzymes exo-cellulaires capables de dégrader la biomasse ligno-cellulosique.

Afin de déterminer des conditions optimales de production des enzymes cellulolytiques, *Trichoderma citrinoviride* a été cultivée en milieu liquide spécifique dans différentes conditions de pH. La production des enzymes est évaluée par la mesure de leur activité. Les résultats obtenus pour trois enzymes d'intérêt sont présentés dans le **document 1**.

- Q2. Analyser les résultats et effectuer un choix argumenté du pH adapté à la production simultanée des trois enzymes.
- Q3. Expliquer la raison pour laquelle ces enzymes peuvent être extraites par simple centrifugation. Préciser dans quelle fraction issue de la centrifugation elles se trouveront.

3. ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ DES ENZYMES HYDROLYTIQUES IMMOBILISÉES SUR NANOPARTICULES MAGNÉTIQUES (NPM-ENZYMES)

Après croissance dans les conditions optimales choisies précédemment, la fraction contenant les enzymes de *Trichoderma citrinoviride* est récupérée. L'extrait obtenu est traité avec des nanoparticules magnétiques (NPM) pour fixer artificiellement les différentes enzymes. On obtient les trois enzymes immobilisées : les NPM-enzymes. L'obtention et l'utilisation de ces enzymes sont présentées dans le **document 2**.

- Q4. Indiquer le ou les intérêt(s) et inconvénient(s) d'utiliser des enzymes immobilisées plutôt que des enzymes libres.
- Q5. Décrire la technique de récupération des NPM-enzymes après leur utilisation.

L'efficacité de l'hydrolyse par les NPM-enzymes est vérifiée vis-à-vis de la dégradation de la bagasse de canne à sucre prétraitée et comparée à celle d'enzymes libres. Les résultats sont présentés dans le **document 3**.

- Q6. Déterminer, en argumentant, le temps au bout duquel les enzymes libres ne sont plus actives.
- Q7. Montrer que ce phénomène n'est pas observé pour les NPM-enzymes et en déduire l'intérêt de l'immobilisation.

L'industriel met en place une procédure de cellulolyse de 48 h sur chaque lot de bagasse prétraitée. Après chaque procédure, les NPM-enzymes sont récupérées pour être réutilisées. L'entreprise souhaite vérifier que la stabilité enzymatique des NPM-enzymes est maintenue après plusieurs utilisations. La détermination des activités résiduelles est présentée dans le **document 4**.

- Q8. Analyser les résultats et conclure sur le nombre maximal d'utilisations des NPM-enzymes pour que moins de 20 % de chaque activité enzymatique soit perdue.
- Q9. Argumenter l'intérêt pour l'entreprise d'utiliser des NPM-enzymes plutôt que des enzymes libres.

4. FERMENTATION DES PRODUITS ISSUS DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE : PRODUCTION DE BIOÉTHANOL

La fermentation des sucres obtenus après hydrolyse enzymatique peut être réalisée par différentes souches de levures. Afin d'optimiser le rendement de production, le département R & D souhaite obtenir une souche capable d'utiliser à la fois le glucose et le xylose. Un

auxanogramme du carbone est alors réalisé avec la souche de *Saccharomyces cerevisiae* dont les résultats sont décrits dans le **document 5**.

Q10. Analyser l'auxanogramme et en déduire l'intérêt pour le département R & D de modifier la souche par recombinaison.

Le **document 6** présente la procédure d'obtention du vecteur recombiné pXR à partir du plasmide YCplac33 et du gène d'intérêt XYL1 issu d'une autre espèce de levure, *Schefferomyces stipitis*.

Le **document 7** présente les étapes ultérieures :

- l'amplification du vecteur recombinant dans une souche d'*E.coli* ;
- la transformation de *S. cerevisiae*.

Q11. Argumenter le choix des enzymes de restriction Pst I et Hind III pour la digestion du plasmide et du gène d'intérêt.

La procédure de préparation du vecteur recombinant pXR a conduit à l'obtention d'un mélange de vecteurs, pXR et YCplac33.

Parmi les bactéries transformées, il est nécessaire de différencier celles qui ont été transformées par le vecteur recombinant pXR de celles qui ont été transformées par le plasmide YCplac33.

Q12. Proposer, en argumentant, un moyen de sélectionner les bactéries *E.coli* transformées, sachant que cette souche bactérienne est sensible à l'ampicilline.

Q13. Indiquer la couleur des colonies de *E.coli* transformées par pXR après croissance sur le milieu de culture. Argumenter la réponse.

SYNTHÈSE

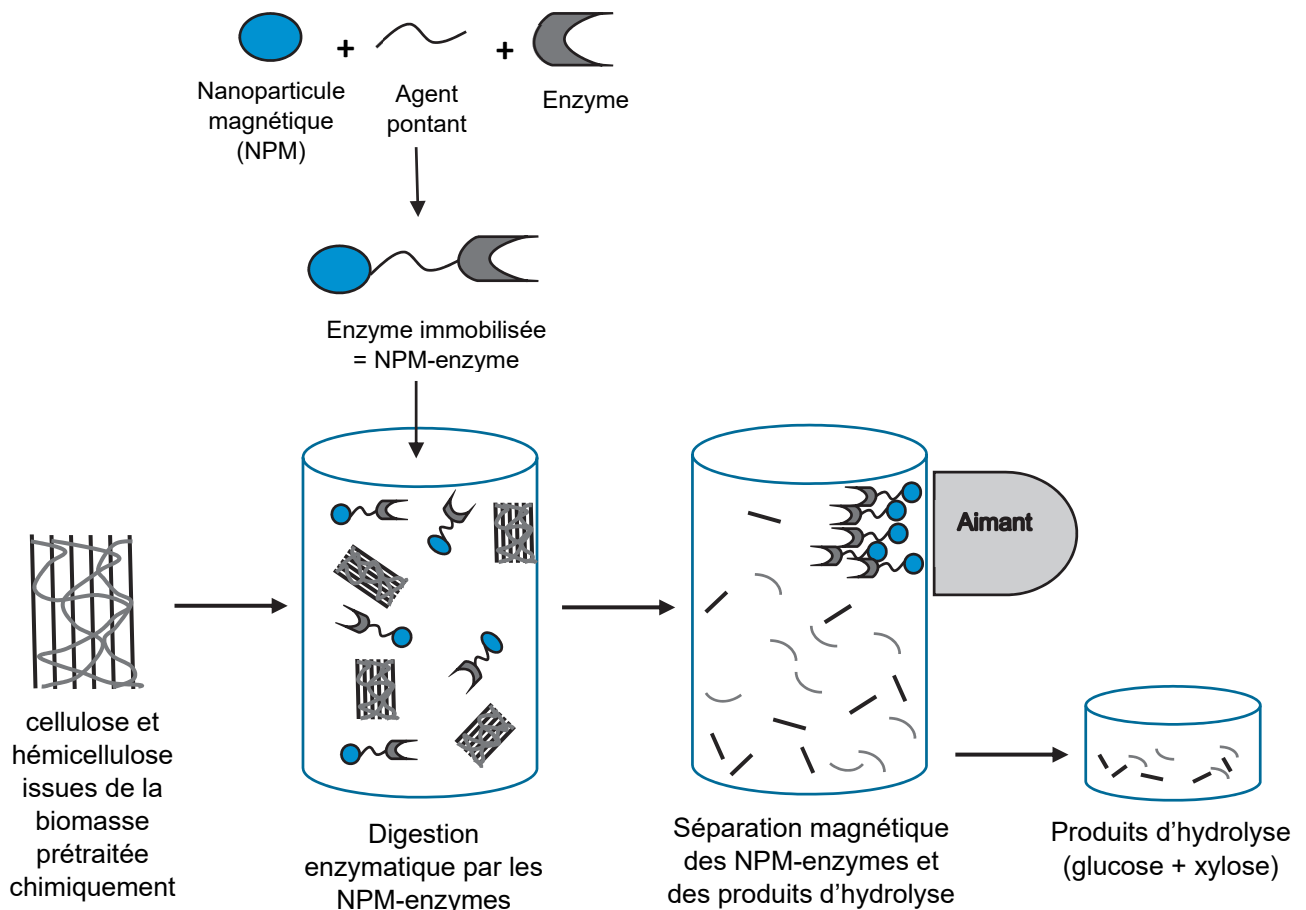
Q14. Rédiger une synthèse présentant les moyens développés par le département R & D pour améliorer les différentes étapes du procédé dans le but d'augmenter le rendement de production de bioéthanol à partir de la bagasse de canne à sucre.

DOCUMENT 1 : influence du pH du milieu sur la production des enzymes exocellulaires chez *Trichoderma citrinoviride* à 30 °C.

pH du milieu de culture	Activité enzymatique en U · g ⁻¹ de biomasse sèche		
	Cellulase	β-Glucosidase	Xylanase
3,0 ± 0,1	204 ± 3	250 ± 4	9047 ± 15
4,0 ± 0,1	287 ± 2	696 ± 3	40188 ± 16
5,0 ± 0,1	384 ± 5	695 ± 5	55000 ± 20
6,0 ± 0,1	386 ± 4	510 ± 4	40547 ± 19
7,0 ± 0,1	150 ± 3	277 ± 3	30487 ± 20
8,0 ± 0,1	89 ± 3	187 ± 2	19147 ± 18

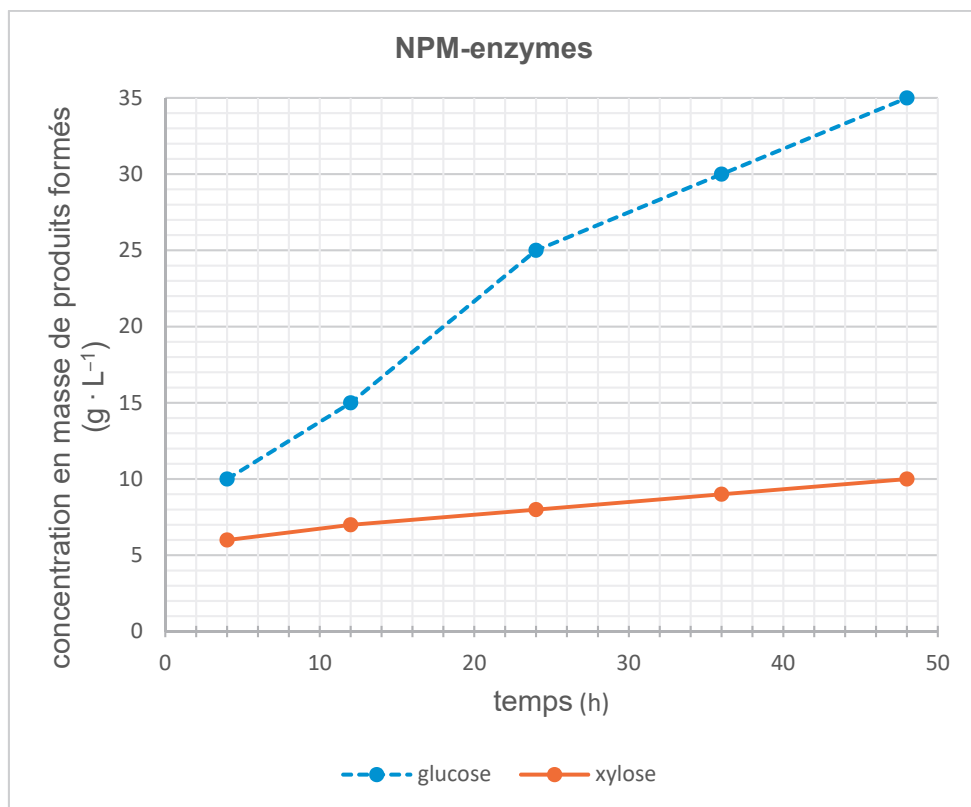
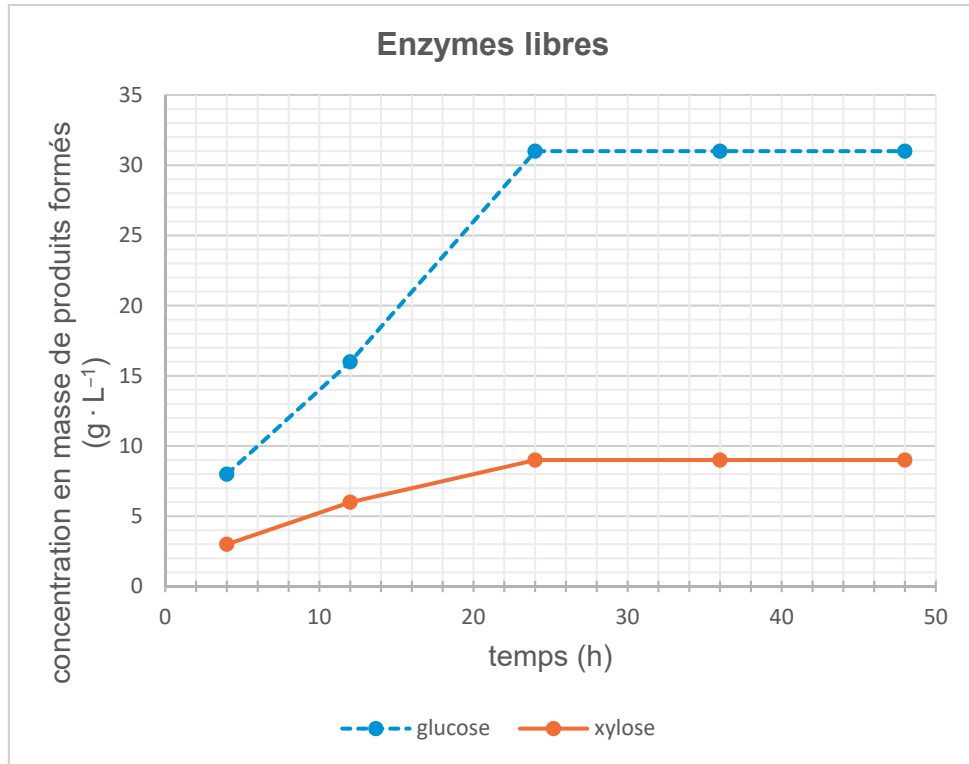
DOCUMENT 2 : obtention et utilisation des enzymes immobilisées sur des nanoparticules magnétiques (NPM-enzymes).

Les enzymes immobilisées sont des enzymes liées par des moyens physico-chimiques sur des nanoparticules magnétiques. L'immobilisation tend à diminuer leur activité par masquage d'une partie des sites actifs. Toutefois, en industrie, les enzymes sont souvent utilisées sous cette forme car l'immobilisation augmente leur stabilité dans le temps et les rend plus résistantes à la dénaturation. L'immobilisation permet aussi leur réutilisation pour plusieurs cycles d'hydrolyse grâce aux propriétés des particules sur lesquelles elles sont fixées.



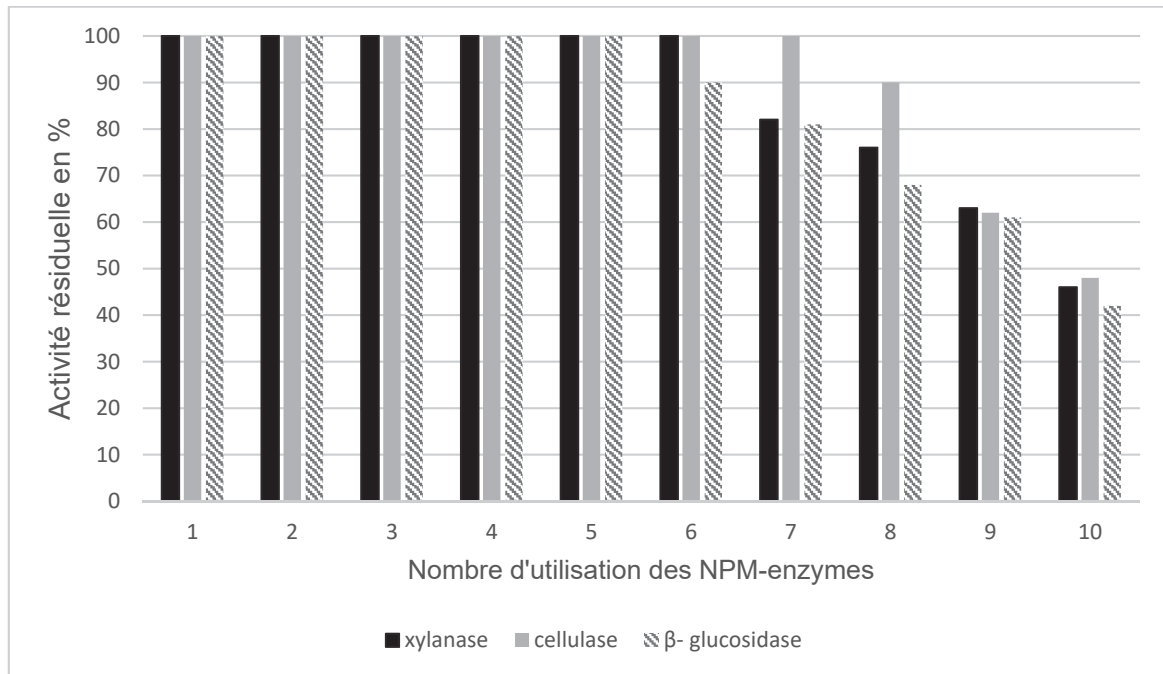
DOCUMENT 3 : étude de l'efficacité hydrolytique des enzymes libres et immobilisées.

Les expériences sont réalisées avec des quantités d'enzymes libres ou immobilisées équivalentes et en présence d'une quantité identique de biomasse prétraitée.



DOCUMENT 4 : étude de la stabilité des NPM-enzymes.

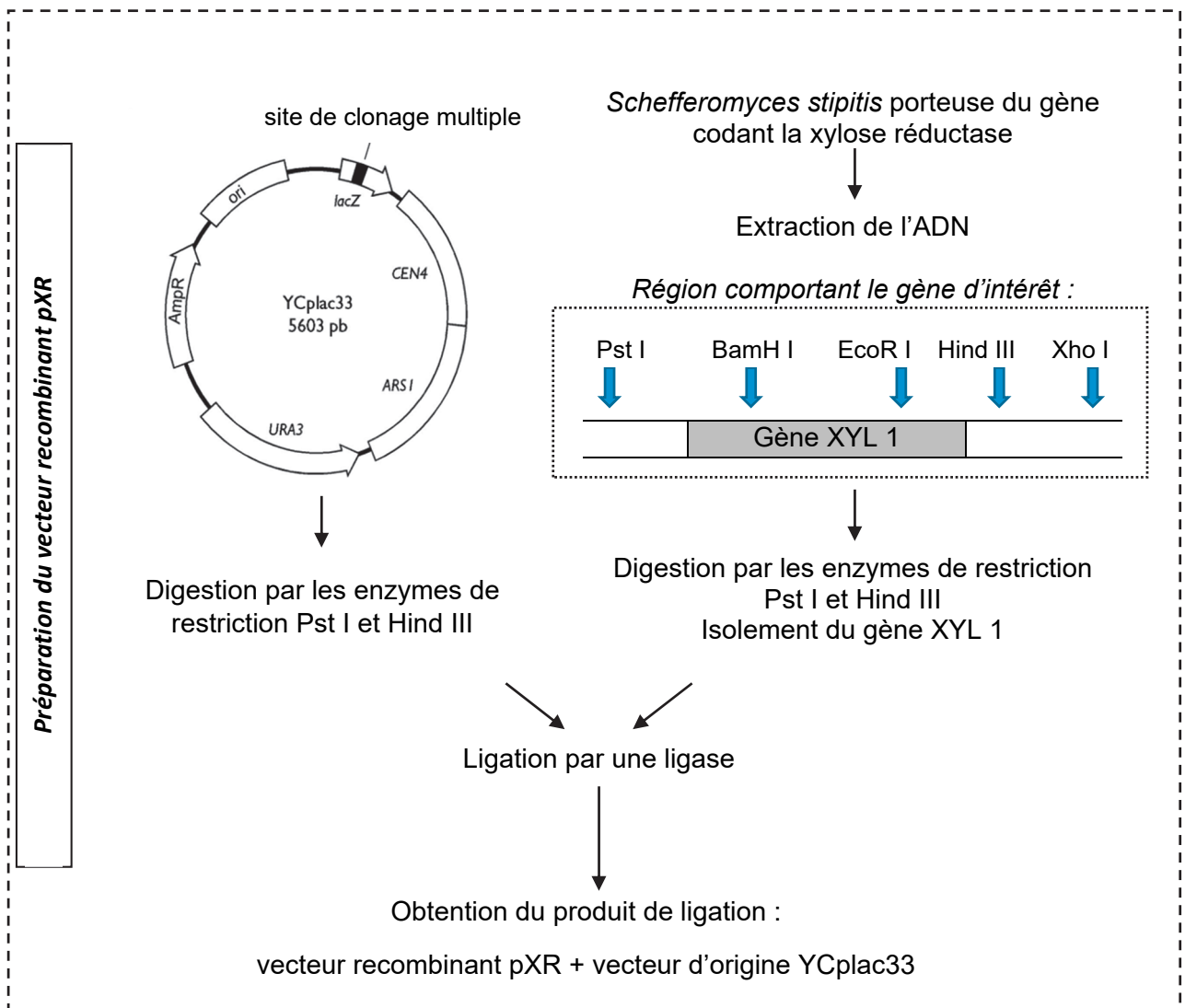
Les mesures d'activités résiduelles sont réalisées pour des quantités d'enzymes immobilisées équivalentes et en présence d'une quantité identique de biomasse initiale.



DOCUMENT 5 : auxanogramme de la souche *Saccharomyces cerevisiae*.

	Unique source de carbone				
	Glucose	Glycérol	Arabinose	Xylose	Galactose
Aspect du milieu de culture après incubation	Trouble	Limpide	Limpide	Limpide	Trouble

DOCUMENT 6 : démarche d'obtention du vecteur recombinant pXR.



Éléments du plasmide YRplac33 :

AmpR : gène de résistance à l'ampicilline.

LacZ : gène de la β -galactosidase. Pour vérifier la présence ou l'absence de l'activité enzymatique β -galactosidase, le milieu de culture est additionné de X-gal, un galactoside incolore dont l'hydrolyse par la β -galactosidase donne un produit coloré en bleu.

ori : origine de réplication bactérienne.

ARS I : origine de réplication de levure.

URA3 : gène de synthèse de l'uracile.

Site de clonage multiple : comporte de nombreux sites de restriction.

DOCUMENT 7 : démarches d'amplification du vecteur recombinant dans *E. coli* et de transformation de *S. cerevisiae*.

