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

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

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

BTS BIOALC • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioAlc

ÉPREUVE E3. UNITÉ U33 - Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyses

Session 2006 • Code sujet : **BAE3BC** • Durée : **2 H** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Étude microscopique de la cellule végétale (2 questions) **Page 3**

2. Création de plantes génétiquement modifiées (4 questions) **Page 5**

3. Détection d'une infection d'un plant de vigne par le GFLV (11 questions) **Page 7**

4. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 13**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2006/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2006 - 3-Sujet.pdf

1. Étude microscopique de la cellule végétale

L'inoculation d'un virus dans une plante nécessite une blessure préalable de la paroi cellulaire. Deux micrographies de cellule végétale servent à identifier la technique microscopique et à légender les structures observées.

Question 1.1. Nommer et exposer le principe de la technique microscopique ayant permis d'obtenir les micrographies, sans décrire la préparation de l'échantillon.

Il s'agit de la **microscopie électronique à transmission (MET)**. Un faisceau d'électrons traverse une coupe très mince de l'échantillon. Selon les structures rencontrées, les électrons sont plus ou moins transmis ou diffusés. Des lentilles électromagnétiques forment alors une image en niveaux de gris, révélant l'ultrastructure interne de la cellule.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Microscopie électronique à transmission (MET) : des électrons traversent l'échantillon et révèlent son ultrastructure interne.

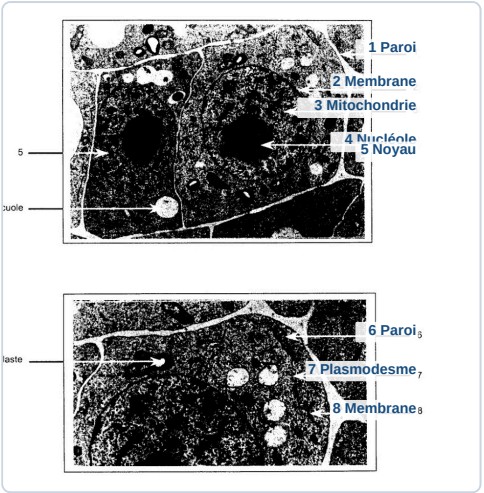
Question 1.2. Légender le document 1, qui présente deux micrographies de cellule végétale.

Les repères numérotés désignent les structures suivantes. La vacuole et le plaste sont déjà légendés sur le document.

Repère	Légende
1	Paroi pecto-cellulosique
2	Membrane plasmique
3	Mitochondrie
4	Nucléole
5	Noyau
6	Paroi pecto-cellulosique
7	Plasmodesme
8	Membrane plasmique

Les repères 1 à 5 correspondent à la micrographie A et les repères 6 à 8 à la micrographie B.

Document 1 légendé



✓ RÉPONSE À RETENIR

1 Paroi ; 2 membrane plasmique ; 3 mitochondrie ; 4 nucléole ; 5 noyau ; 6 paroi ; 7 plasmodesme ; 8 membrane plasmique. Vacuole et plaste sont déjà indiqués.

2. Création de plantes génétiquement modifiées

L'exercice porte sur une stratégie de protection de la vigne contre le grapevine fanleaf virus (GFLV), responsable du court-noué, en introduisant un gène viral dans le génome végétal. Il mobilise les caractéristiques du virus et les étapes du clonage d'un gène dans un plasmide d'Agrobacterium tumefaciens.

Caractéristiques du GFLV

Question 2.1.1. Expliquer la signification de l'expression ARN(+) et justifier cette désignation.

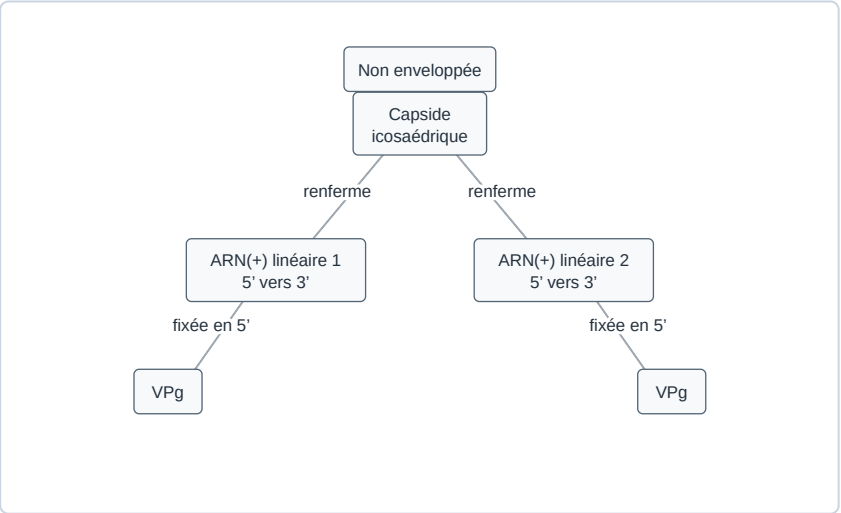
Le signe **(+)** indique que l'ARN viral possède la même polarité qu'un ARN messager : sa séquence peut être lue par les ribosomes. Après son entrée dans la cellule, l'ARN(+) du GFLV peut donc être traduit directement en protéines virales. Il n'a pas besoin d'être d'abord copié en ARN complémentaire. À l'inverse, un ARN(−) doit être transcrit en ARN(+) avant d'être traduit.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'ARN(+) du GFLV sert directement d'ARN messager et peut être traduit par les ribosomes de la cellule hôte.

Question 2.1.2. Réaliser un schéma légendé de la structure d'une particule de GFLV.

Le GFLV est une particule **non enveloppée** dont la capside présente une symétrie icosaédrique. À l'intérieur se trouvent deux molécules distinctes d'ARN simple brin, linéaires et de polarité positive. Une protéine VPg est associée à l'extrémité 5' de chacune. Le schéma représente ces éléments et indique que la capside renferme les deux ARN, sans ajouter d'enveloppe.

Structure d'une particule de GFLV



Deux ARN(+) linéaires sont contenus dans la capside, chacun avec une VPg fixée à son extrémité 5'. La particule ne possède pas d'enveloppe.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Capside icosaédrique non enveloppée contenant deux ARN(+) linéaires, chacun associé à une VPg en 5'.

Clonage du gène viral

Question 2.2.1. Définir un plasmide et expliquer pourquoi il constitue un bon vecteur de clonage.

Un **plasmide** est une molécule d'ADN généralement circulaire et à double brin, distincte du chromosome bactérien. Il se réplique de manière autonome grâce à son origine de réplication. C'est un bon vecteur de clonage car il peut être isolé, coupé puis réuni au gène d'intérêt, avant d'être multiplié dans une bactérie. Il porte généralement un marqueur de sélection, tel qu'un gène de résistance à un antibiotique, qui facilite l'identification des bactéries transformées.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Vecteur d'ADN autonome et modifiable, le plasmide permet l'insertion et la multiplication du gène viral, puis la sélection des bactéries transformées.

Question 2.2.2. Détailler les étapes de construction du plasmide recombinant, d'introduction du plasmide dans la bactérie et de sélection des clones transformés.

1. **Construction :** couper le plasmide et le gène viral avec une ou des enzymes de restriction adaptées, puis assembler les fragments aux extrémités compatibles grâce à une ADN ligase. Le plasmide obtenu porte le gène viral.
2. **Introduction :** transférer le plasmide recombinant dans des cellules d'*Agrobacterium tumefaciens* par transformation.
3. **Sélection :** cultiver les bactéries sur un milieu contenant l'antibiotique correspondant au marqueur du plasmide. Repérer les colonies résistantes, puis vérifier lesquelles portent bien l'insert, par exemple par PCR ou digestion de contrôle.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Insérer le gène viral dans le plasmide, transformer *Agrobacterium*, puis sélectionner les bactéries porteuses et vérifier l'insert.

3. Détection d'une infection d'un plant de vigne par le GFLV

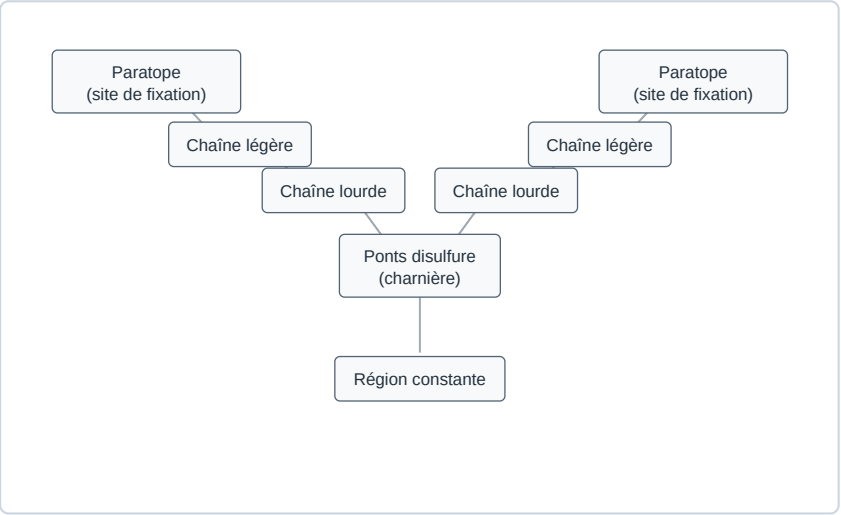
La détection du GFLV est étudiée par deux méthodes : le test immunologique ELISA et la RT-PCR. Les documents portent sur la production d'anticorps monoclonaux, l'extraction et l'amplification de l'ARN viral, ainsi que sur une séquence génique et des couples d'amorces.

Test immunologique de détection du GFLV

Question 3.1.1. Réaliser un schéma légendé de la structure d'un anticorps, puis localiser et nommer le site de fixation de l'antigène.

L’anticorps est une immunoglobuline en Y formée de deux chaînes lourdes identiques et de deux chaînes légères identiques, reliées par des ponts disulfure. Les extrémités des bras contiennent les régions variables des chaînes lourdes et légères. Leur association forme deux sites de fixation identiques de l’antigène, appelés paratopes.

Structure d’un anticorps



Les régions variables des deux chaînes forment chaque site de fixation.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Deux paratopes, situés aux extrémités des bras de l’anticorps, assurent la fixation de l’antigène.

Question 3.1.2. Indiquer les caractéristiques des lymphocytes B et des cellules myélomateuses utilisées à l'étape 2 du document 2.

Les lymphocytes B proviennent de la rate de la souris immunisée contre le GFLV. Certains produisent un anticorps spécifique du virus ; ils sont HGPRT+ mais ne se multiplient pas indéfiniment. Les cellules myélomateuses sont immortelles, ne sécrètent pas l’anticorps recherché et sont HGPRT−. La fusion associe la spécificité des lymphocytes B à la capacité de multiplication des myélomes. La déficience HGPRT des myélomes permet la sélection des cellules fusionnées en milieu HAT.

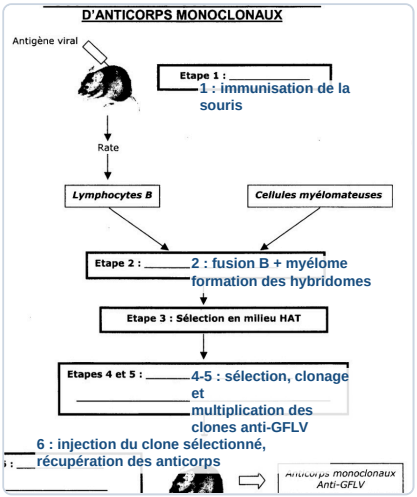
✓ RÉPONSE À RETENIR

Lymphocytes B : producteurs d’anti-GFLV, HGPRT+, non immortels. Myélomes : immortels, HGPRT−, non producteurs de l’anticorps recherché.

Question 3.1.3. Compléter le document 2 et commenter l'étape 3 à l'aide des données du document 3.

Étape 1 : immuniser la souris avec l'antigène viral. Étape 2 : fusionner les lymphocytes B avec les cellules myélomateuses pour former des hybridomes. En milieu HAT, l'aminoptérine bloque la synthèse de novo ; les cellules doivent utiliser la voie de récupération, dépendante de TK et HGPRT. Les myélomes HGPRT− non fusionnés meurent, tandis que les lymphocytes B non immortels ne survivent pas durablement. Les étapes 4 et 5 sélectionnent, clonent et multiplient les hybridomes sécrétant l'anti-GFLV. À l'étape 6, le clone sélectionné est injecté à une souris ; les anticorps sont récupérés dans le liquide d'ascite puis purifiés.

Document 2 complété



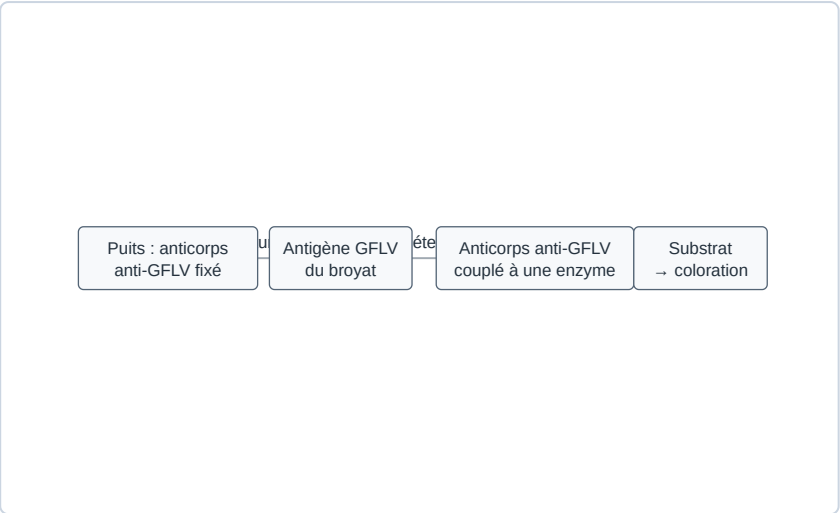
✓ RÉPONSE À RETENIR

Le milieu HAT sélectionne les hybridomes. Les clones anti-GFLV sont isolés, multipliés, puis utilisés pour produire et récupérer les anticorps monoclonaux.

Question 3.1.4. Schématiser les étapes du principe d'un test ELISA de type sandwich appliqué à la détection du GFLV dans un broyat de feuille de vigne, sans extraction complémentaire.

Le broyat de feuille est déposé directement dans un puits portant un anticorps anti-GFLV de capture. Après incubation, le GFLV éventuellement présent se fixe à cet anticorps ; un lavage élimine les molécules non retenues. Un second anticorps anti-GFLV, dirigé contre un autre épitope et couplé à une enzyme, est ajouté, puis un nouveau lavage est effectué. L'ajout du substrat provoque une coloration si le virus est présent.

ELISA sandwich pour détecter le GFLV



Effectuer un lavage après la capture du virus et après l'ajout de l'anticorps de détection.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Anticorps de capture fixé → GFLV du broyat → anticorps anti-GFLV couplé à une enzyme → substrat : coloration si le GFLV est présent.

Test moléculaire de détection : RT-PCR

Question 3.2.1. Donner la signification du sigle RT-PCR et exposer le principe général de cette méthode.

RT-PCR signifie « reverse transcription polymerase chain reaction », soit transcription inverse suivie d'une réaction de polymérisation en chaîne. La transcriptase inverse copie l'ARN viral en ADN complémentaire (ADNc). Des amorces spécifiques encadrent ensuite la séquence cible ; la Taq polymérase la copie à chaque cycle de PCR, en présence de nucléotides. La répétition des cycles amplifie l'ADNc, puis les produits sont détectés par électrophorèse sur gel.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La RT-PCR transforme l'ARN viral en ADNc, puis amplifie une séquence ciblée afin de détecter le GFLV.

Protocole RT-PCR

Question 3.2.2.1. Expliquer le rôle des étapes 1, 2 et 3 du document 4, en précisant notamment les actions respectives de l'EDTA et du SDS.

Étape 1 : le broyage des feuilles congelées dans l'azote liquide désorganise les tissus et les cellules, tout en limitant l'activité enzymatique. Étape 2 : le tampon libère les acides nucléiques. L'EDTA capte les ions divalents, notamment Mg^{2+}, nécessaires aux nucléases, et protège ainsi l'ARN. Le SDS est un détergent qui désorganise les membranes et dénature les protéines. Étape 3 : le phénol-chloroforme sépare les protéines des acides nucléiques ; l'alcool isoamylique limite la formation d'émulsions.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Broyage pour désorganiser les tissus ; EDTA pour inhiber les nucléases ; SDS pour lyser les membranes et dénaturer les protéines ; phénol-chloroforme pour séparer les protéines des acides nucléiques.

Question 3.2.2.2. Préciser le rôle des hexamères introduits dans le milieu réactionnel lors de l'étape 9 du document 4.

Les hexamères sont de courts oligonucléotides d'ADN capables de s'hybrider en différents endroits des ARN extraits. Chaque hexamère fournit une extrémité 3'-OH à partir de laquelle la transcriptase inverse peut allonger et synthétiser un ADN complémentaire. Ces amorces étant non spécifiques d'un seul gène, elles permettent la transcription inverse de nombreux ARN de l'échantillon, dont l'ARN du GFLV.

✓ RÉPONSE À RETENIR

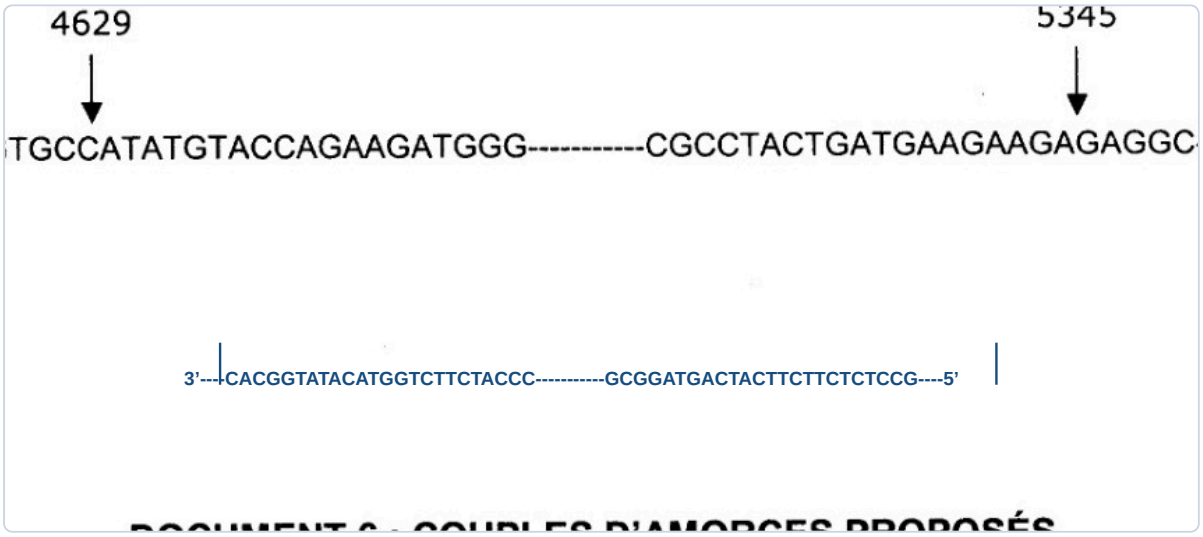
Les hexamères s'hybrident aux ARN et servent d'amorces à la transcriptase inverse pour synthétiser l'ADNc.

Séquence cible et choix des amorces

Question 3.2.3.1. Compléter le document 5 en écrivant la séquence du brin d'ADN complémentaire.

Le brin complémentaire s'obtient par appariement A-T et G-C. Il est antiparallèle au brin fourni : la séquence ci-dessous est donc écrite de 3' vers 5'. Les tirets du document indiquent la portion intermédiaire non représentée et sont conservés.

Document 5 complété : brin complémentaire



✓ RÉPONSE À RETENIR

3'----CACGGTATACATGGTCTTCTACCC----------GCGGATGACTACTTCTTCTCTCCG----5'

Question 3.2.3.2. Choisir, parmi les deux couples d'amorces du document 6, celui qui permet d'amplifier la séquence cible, puis positionner chacune des amorces choisies sur le document 5.

Le couple B convient. L'amorce sens 5'-GTGCCATATGTACCAGAA-3' s'hybride au brin complémentaire à gauche et s'allonge vers la droite. L'amorce antisens 5'-GCCTCTCTTCTTCATCAG-3' s'hybride au brin fourni à droite et s'allonge vers la gauche. Elles encadrent ainsi la région cible. Le couple A ne convient pas : son amorce droite est identique à la séquence cible et ne peut donc pas s'hybrider à ce brin.

Document 5 : amorces du couple B positionnées



✓ **RÉPONSE À RETENIR**

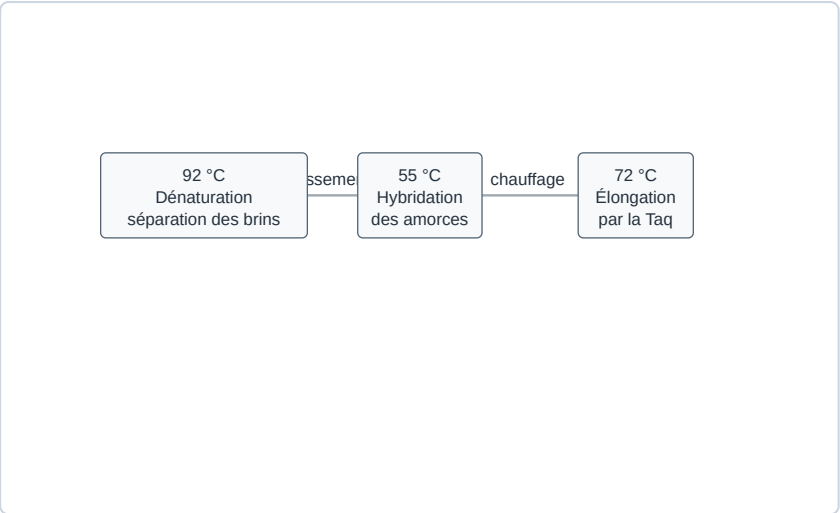
Couple B : amorce sens à gauche, 5'-GTGCCATATGTACCAGAA-3' ; amorce antisens à droite, 5'-GCCTCTCTTCTTCATCAG-3'.

Test moléculaire de détection : RT-PCR

Question 3.2.4. Schématiser le déroulement d'un cycle de PCR.

Un cycle comporte trois étapes successives. À 92 °C, les deux brins d'ADN se séparent : c'est la dénaturation. À 55 °C, les amorces s'hybrident aux séquences complémentaires qui encadrent la cible. À 72 °C, la Taq polymérase allonge les amorces en incorporant des dNTP. La répétition des étapes 11 à 13 amplifie la séquence ; le protocole prévoit 34 cycles.

Les trois phases d’un cycle de PCR



Dans le protocole, le cycle est répété 34 fois.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Dénaturation à 92 °C → hybridation des amorces à 55 °C → élongation par la Taq à 72 °C ; répétition 34 fois.

Comparaison des deux méthodes

Question 3.3. Donner les principaux avantages et inconvénients des deux méthodes utilisées.

ELISA : simple, rapide et peu coûteux, il permet d’analyser de nombreux échantillons. Il dépend toutefois de la disponibilité d’anticorps spécifiques et peut manquer de sensibilité si l’antigène est peu abondant ; des réactions croisées sont possibles. **RT-PCR :** très sensible et ciblée, elle détecte de faibles quantités d’ARN viral. Elle exige une extraction, du matériel et une maîtrise technique ; les inhibiteurs et les contaminations peuvent fausser le résultat. Elle détecte le génome viral, pas directement l’infectiosité.

✓ RÉPONSE À RETENIR

ELISA : simple et rapide, mais dépend de la quantité d’antigène et de la spécificité des anticorps. RT-PCR : très sensible, mais plus exigeante et vulnérable aux contaminations.

SYNTHÈSE DE L'ÉPREUVE & RÉFÉRENTIEL • BTS BIOALC

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2006)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve E3, unité U33 du BTS Bioanalyses et contrôles, correspond à la session 2006, repère BAE3BC, et dure 2 H, coefficient 3. Sur le thème de la lutte contre les virus pathogènes de la vigne, elle évalue la microscopie cellulaire, le clonage génétique et la détection du GFLV par ELISA et RT-PCR, notamment l'analyse de séquences et le choix d'amorces.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Un ARN(+) viral a la polarité d'un ARN messager et peut servir directement à la traduction.
- Un plasmide recombinant permet de transporter un gène d'intérêt dans une cellule hôte.
- En milieu HAT, l'aminoptérine bloque la voie de novo et la survie dépend de la voie de récupération des nucléotides.
- La RT-PCR rétrotranscrit l'ARN en ADN complémentaire, puis amplifie la séquence ciblée par PCR.

Points de vigilance & attentes du jury

- Sur le schéma du GFLV, représenter les deux ARN(+) linéaires et les protéines VPg à leurs extrémités 5'.
- Pour la sélection HAT, relier le blocage de la voie de novo à la disponibilité des enzymes de récupération.
- Vérifier que les amorces sont complémentaires des brins ciblés et orientées l'une vers l'autre.
- Distinguer les trois phases du cycle PCR : dénaturation, hybridation des amorces et élongation.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment distinguer un ARN(+) d'un ARN(-) ?

Un ARN(+) a la même polarité qu'un ARN messager et peut être lu directement par les ribosomes. Un ARN(-) doit d'abord être transcrit en ARN complémentaire de polarité positive avant la traduction.

Q : Pourquoi ajouter des hexamères lors de la rétrotranscription ?

Les hexamères sont de courtes amorces qui s'hybrident à différentes régions de l'ARN. Ils fournissent à la transcriptase inverse une extrémité 3' à partir de laquelle elle synthétise l'ADN complémentaire.

Q : Comment répartir son temps entre les parties de cette épreuve ?

L'épreuve dure deux heures. La microscopie vaut 8 points, le clonage 13 points et la détection du GFLV 39 points. Accordez donc une part importante du temps à la détection, tout en gardant quelques minutes pour vérifier les réponses.

Q : Que doit montrer le schéma d'un cycle de PCR ?

Le schéma doit distinguer la dénaturation des brins, l'hybridation des amorces sur les séquences complémentaires et l'élongation par la polymérase. Indiquez le rôle de chaque phase et l'orientation des brins synthétisés.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2006/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2006 - 3-Sujet.pdf
Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

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

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

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

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