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

Biologie cellulaire et moléculaire et technologies d’analyse

Session 2016 • Code sujet : **BAE3BC** • Durée : **2 heures** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Les HPV : cycle viral et dépistage (8 questions) **Page 3**

2. Stratégie vaccinale (17 questions) **Page 7**

3. 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/2016/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2016 - 3-Sujet.pdf

1. Les HPV : cycle viral et dépistage

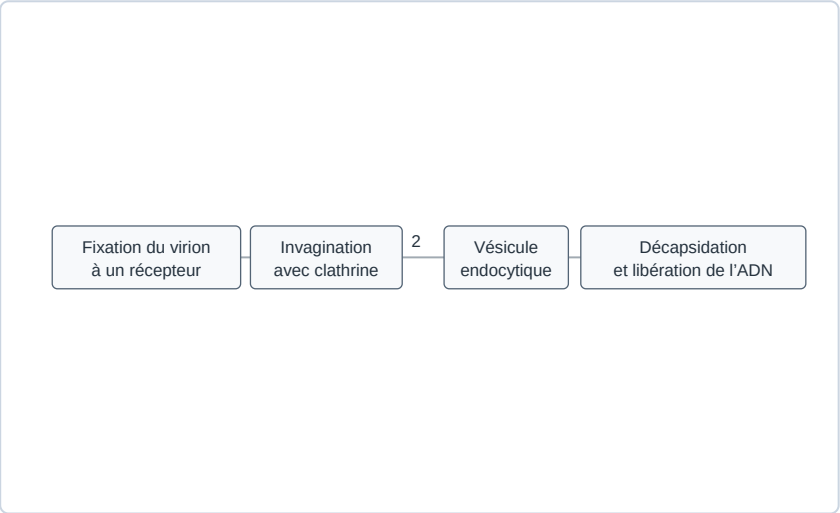
L'étude porte sur les papillomavirus humains, virus à ADN double brin associés à des anomalies cellulaires et à certains cancers, ainsi que sur leur cycle et leur dépistage. Les documents présentent une méthode de génotypage par hybridation inverse sur bandelettes après amplification par PCR.

1.1 - Le cycle viral

Question 1.1.1. Expliquer, à l'aide d'un schéma annoté et commenté, les étapes de la pénétration du virus par endocytose dépendante de la clathrine.

Le virion se fixe à la membrane cellulaire, puis la clathrine permet la formation d'un puits qui s'invagine. Une vésicule contenant le virus se détache et perd son manteau de clathrine. Elle rejoint un compartiment endosomal, où le virion se désassemble. L'ADN viral est alors libéré dans la cellule puis acheminé vers le noyau. Les étapes sont résumées dans le schéma.

Pénétration d'un HPV par endocytose clathrine-dépendante



La vésicule perd son manteau de clathrine avant la décapsidation.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Fixation, invagination clathrine-dépendante, formation d'une vésicule, décapsidation, puis libération et acheminement de l'ADN viral vers le noyau.

Question 1.1.2. Justifier le terme « phase d'éclipse » et citer les étapes qui constituent cette phase du cycle viral.

La phase est dite « d'éclipse » car aucun virion infectieux complet n'est détectable dans la cellule entre la pénétration du virus et l'apparition des premiers virions nouvellement formés. Le génome viral est pourtant présent et actif. Cette phase comprend la décapsidation, la réplication du génome et l'expression des gènes viraux, puis la synthèse des protéines virales et l'assemblage des nouveaux virions.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'éclipse correspond à la période sans virion infectieux complet détectable, de la pénétration à l'assemblage des premiers virions.

1.2 - La détection des HPV

Question 1.2.1. Indiquer la signification du sigle PCR.

PCR signifie *Polymerase Chain Reaction*, soit réaction en chaîne par polymérase. Cette méthode amplifie une séquence d'ADN cible au moyen de cycles successifs. Dans le génotypage présenté au document 1, elle amplifie un fragment de 450 pb de la région L1 du génome HPV, avec des amorces consensus biotinylées. L'amplicon obtenu peut ensuite être détecté par hybridation sur la bandelette.

✓ RÉPONSE À RETENIR

PCR : *Polymerase Chain Reaction*, ou réaction en chaîne par polymérase.

Question 1.2.2. Préciser la propriété principale de l'ADN polymérase particulière utilisée en PCR.

L'ADN polymérase utilisée en PCR doit être thermostable : elle conserve son activité malgré les températures élevées de dénaturation, répétées à chaque cycle. Elle peut ainsi synthétiser les nouveaux brins sans être remplacée après chaque chauffage. La Taq polymérase, issue d'une bactérie thermophile, est un exemple classique de cette enzyme. Sa thermostabilité est la propriété principale attendue pour la PCR.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'ADN polymérase de PCR est thermostable et résiste aux températures de dénaturation.

Question 1.2.3. Nommer les principales phases d'un cycle d'amplification génique par PCR.

Un cycle d'amplification comprend trois phases successives. La dénaturation sépare les deux brins d'ADN par chauffage. L'hybridation, à une température plus basse, permet aux amorces de se fixer sur les séquences complémentaires. Enfin, l'élongation permet à l'ADN polymérase d'allonger les amorces et de synthétiser les nouveaux brins. Ces trois étapes sont répétées pour amplifier la séquence cible.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Dénaturation, hybridation des amorces, puis élongation par l'ADN polymérase.

Question 1.2.4. Établir la formule permettant de déterminer le nombre de copies du gène cible obtenues après n cycles d'amplification.

En supposant une amplification idéale, chaque molécule d'ADN cible donne deux molécules à chaque cycle. Si le nombre initial de copies est N_0, après n cycles, le nombre obtenu est donc $N_n = N_0 \times 2^n$. Pour une seule copie initiale, cela donne 2^n copies. Le rendement réel peut être inférieur à cette valeur théorique.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> $N_n = N_0 \times 2^n$; pour une copie initiale : 2^n.

Question 1.2.5. À l'aide du document n° 1, expliquer comment valider la technique de génotypage par hybridation inverse sur bandelettes.

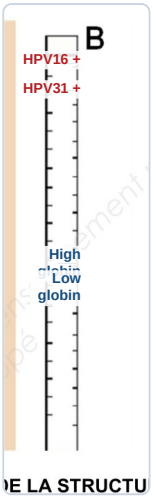
Le contrôle interne du kit repose sur l'amplification du gène humain de la β-globine. Après hybridation et révélation, l'apparition des deux bandes Low globin et High globin confirme que l'ADN humain a été amplifié et que le test est interprétable. Si ces bandes sont absentes, le résultat est invalide, même si aucune bande HPV n'apparaît. Une bande colorée à la position d'une sonde HPV spécifique indique le génotype détecté.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Résultat valide si les bandes Low globin et High globin sont présentes ; les bandes HPV identifient les génotypes détectés.

Question 1.2.6. Compléter le document n° 2 pour présenter le résultat attendu pour une patiente infectée par HPV16 et HPV31. Le document complété est à annexer à la copie.

Les amplicons HPV16 et HPV31 biotinylés s'hybrident aux sondes spécifiques correspondantes de la bandelette. La streptavidine-phosphatase alcaline se fixe aux hybrides biotinylés et, après ajout du chromogène, les lignes correspondantes se colorent en violet. Le résultat attendu comporte donc les bandes HPV16 et HPV31, ainsi que les deux bandes Low globin et High globin du contrôle interne.

Document 2 complété : HPV16 et HPV31 détectés



✓ RÉPONSE À RETENIR

Bandes HPV16 et HPV31 positives, avec les deux bandes de contrôle Low globin et High globin.

2. Stratégie vaccinale

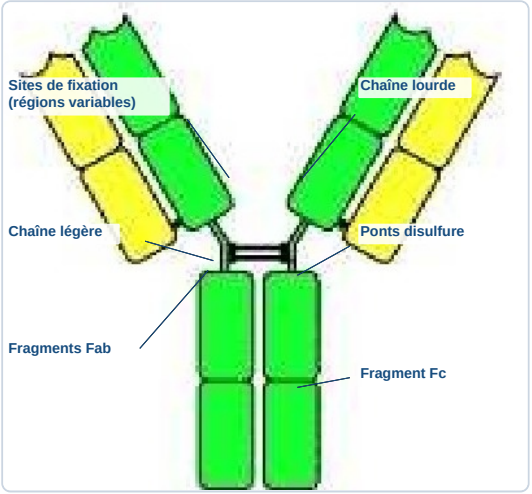
Cette partie étudie les vaccins prophylactiques contre les HPV, constitués de particules pseudo-virales VLP formées par des protéines de capside L1, et les réponses immunitaires qu'ils déclenchent. Les documents portent sur l'expression de L1 chez la levure, la purification et le contrôle des VLP, puis sur l'immunogénicité des vaccins bivalent et quadrivalent.

2.1 - Réponse immunitaire

Question 2.1.1. Annoter la structure de l'immunoglobuline G présentée dans le document n° 3. Le document est à annexer à la copie.

L'IgG comporte deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques, reliées notamment par des ponts disulfure. Les extrémités des deux bras portent les régions variables, qui reconnaissent l'antigène. Chaque bras constitue un fragment Fab et porte un site de fixation. La tige formée par les régions constantes des chaînes lourdes constitue le fragment Fc.

IgG annotée



✓ RÉPONSE À RETENIR

Annoter les chaînes lourdes et légères, les ponts disulfure, les régions variables, les deux fragments Fab et le fragment Fc.

Question 2.1.2. Analyser le document n° 4 afin de caractériser les réponses immunitaires observées après l'introduction de l'antigène.

Le document montre deux phases après l'exposition à l'antigène :

- Après la première exposition, les IgM apparaissent tôt et leur concentration retombe rapidement. Les IgG apparaissent plus tard et atteignent un niveau modéré.
- Après la seconde exposition, les IgG augmentent plus vite, atteignent un niveau beaucoup plus élevé et restent élevées plus longtemps. Les IgM réapparaissent, mais leur réponse demeure brève et faible.

La réponse secondaire est donc plus rapide, plus intense et plus durable, surtout pour les IgG.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La seconde exposition déclenche une réponse IgG plus rapide, plus intense et plus durable que la réponse primaire.

2.2 - Vecteur YEGα-HPV16 L1

Question 2.2.1. Définir un « vecteur d'expression ».

Un vecteur d'expression est une molécule d'ADN qui transporte un gène d'intérêt dans une cellule hôte et comporte les séquences permettant sa transcription et son expression. Dans ce cas, le plasmide YEGα-HPV16 L1 porte le gène HPV16 L1 ainsi que des éléments fonctionnels pour la levure, dont le promoteur et l'origine de réplication. Il permet ainsi à la levure de produire la protéine L1.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Plasmide portant le gène d'intérêt et les séquences nécessaires à son expression dans la cellule hôte.

Question 2.2.2. Préciser la nature des molécules EcoR I et Sal I, puis expliquer leur rôle lors de l'introduction du gène HPV16 L1 dans le vecteur.

EcoR I et Sal I sont des enzymes de restriction, ou endonucléases. Chacune reconnaît une séquence spécifique et coupe l'ADN à cet endroit. Les mêmes enzymes servent à ouvrir le vecteur et à délimiter l'insert HPV16 L1, produisant des extrémités compatibles aux deux jonctions. Une ADN ligase peut ensuite réunir l'insert au plasmide. L'emploi de deux enzymes différentes favorise une insertion orientée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

EcoR I et Sal I coupent spécifiquement le vecteur et l'insert, permettant l'insertion orientée puis la ligature du gène.

Question 2.2.3. Après transformation des levures par le vecteur d'expression, justifier le choix d'un milieu de culture sans uracile.

Le plasmide porte le gène URA3, qui code une enzyme nécessaire à la synthèse de l'uracile. Dans un milieu sans uracile, une levure ura3− ne peut croître que si elle a reçu un plasmide fonctionnel portant URA3. Cette culture sélectionne donc les levures transformées et maintient la pression de sélection en faveur des cellules porteuses du vecteur d'expression.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le milieu sans uracile sélectionne les levures ura3− transformées, capables de synthétiser l'uracile grâce au gène URA3 du plasmide.

Question 2.2.4. **Expliquer l'intérêt de la présence d'une origine de réplication dans la construction du vecteur d'expression YEGα-HPV16 L1.**

L'origine de réplication est la séquence à partir de laquelle le plasmide peut être copié dans la levure. Elle permet sa réplication indépendamment du chromosome, puis sa transmission aux cellules filles lors des divisions. Sans origine fonctionnelle reconnue par la levure, le vecteur serait progressivement perdu et l'expression du gène HPV16 L1 ne serait pas maintenue dans la culture.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> L'origine de réplication permet au plasmide de se répliquer et de se maintenir dans les levures au fil des divisions.

Question 2.2.5. **Préciser le rôle du promoteur.**

Le promoteur est une séquence d'ADN située en amont du gène. Il permet le recrutement de l'ARN polymérase et le démarrage de la transcription. Dans le vecteur, le promoteur GAL contrôle ainsi la transcription du gène HPV16 L1 par la levure. Son activité dépend de la régulation du système GAL et des conditions de culture.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Le promoteur GAL permet l'initiation et la régulation de la transcription du gène HPV16 L1 dans la levure.

2.3 - Purification des protéines capsidales

Question 2.3.1. **Nommer la méthode de centrifugation utilisée pour purifier les VLP16 L1.**

Il s'agit d'une ultracentrifugation zonale en gradient de saccharose, aussi appelée centrifugation en gradient de vitesse. L'extrait cellulaire est déposé à la surface du gradient préformé, puis centrifugé. Ses constituants migrent à des vitesses différentes et se répartissent en zones. Le tube est ensuite fractionné afin de récupérer séparément les constituants selon leur position.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Ultracentrifugation zonale, ou centrifugation en gradient de vitesse de saccharose.

Question 2.3.2. **Expliquer le principe de la méthode de séparation par centrifugation décrite dans le document n° 6.**

Le gradient de saccharose est plus concentré vers le fond du tube. Sous l'effet de l'ultracentrifugation, les particules sédimentent à des vitesses dépendant notamment de leur taille, de leur masse et de leur forme. Elles se séparent en zones distinctes, sans que la séparation repose nécessairement sur une égalité de densité avec le milieu. Le fractionnement permet de recueillir chaque zone séparément.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Les particules sédimentent à des vitesses différentes dans le gradient et se répartissent en zones récupérées dans des fractions distinctes.

Question 2.3.3. Indiquer ce que contiennent les fractions comprenant de 30 à 40 % de saccharose.

Les fractions comprises entre 30 et 40 % de saccharose contiennent la zone où se trouvent les VLP16 L1 recherchées. Elles sont réunies, puis dialysées et centrifugées à nouveau selon le protocole. Elles ne correspondent pas à un produit final entièrement purifié, car les étapes de chromatographie d'exclusion et d'échange d'ions figurent encore parmi les étapes de purification.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Ces fractions contiennent les VLP16 L1, qui sont ensuite rassemblées pour poursuivre leur purification.

2.4 - Contrôle des VLP

Question 2.4.1. Indiquer le type de microscopie utilisé pour obtenir l'image du document n° 7 et expliquer brièvement son principe.

Il s'agit d'une microscopie électronique à transmission (MET), comme le suggèrent l'image de particules après coloration négative et son échelle nanométrique. Un faisceau d'électrons traverse une préparation très fine. Les électrons transmis sont détectés pour former l'image. Le contraste provient notamment de la différence de diffusion des électrons entre l'échantillon et le produit de coloration.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Microscopie électronique à transmission : l'image est formée à partir des électrons traversant la préparation.

Question 2.4.2. Préciser l'intérêt d'utiliser une solution d'acétate d'uranyle, métal lourd, pour l'observation des VLP.

L'acétate d'uranyle contient un métal lourd qui diffuse fortement les électrons et augmente le contraste en microscopie électronique. En coloration négative, il entoure les particules plutôt que de les colorer fortement elles-mêmes. Les VLP ressortent ainsi par contraste avec le fond, ce qui rend leur forme et leurs contours plus facilement observables.

✓ RÉPONSE À RETENIR

L'acétate d'uranyle augmente le contraste en coloration négative et rend les contours des VLP visibles en MET.

Question 2.4.3. D’après l’image du document n° 7, estimer la taille des particules et justifier que les VLP16 L1 produites sont conformes aux attentes.

La barre d’échelle du document mesure 100 nm. Le diamètre des particules visibles est approximativement égal à la moitié de cette barre, soit environ 50 nm. Cette estimation concorde avec le diamètre des virions HPV indiqué dans le sujet. Les VLP16 L1 observées sont donc conformes aux attentes en taille, même si l’image ne permet pas de conclure à elle seule sur tous les critères de qualité.

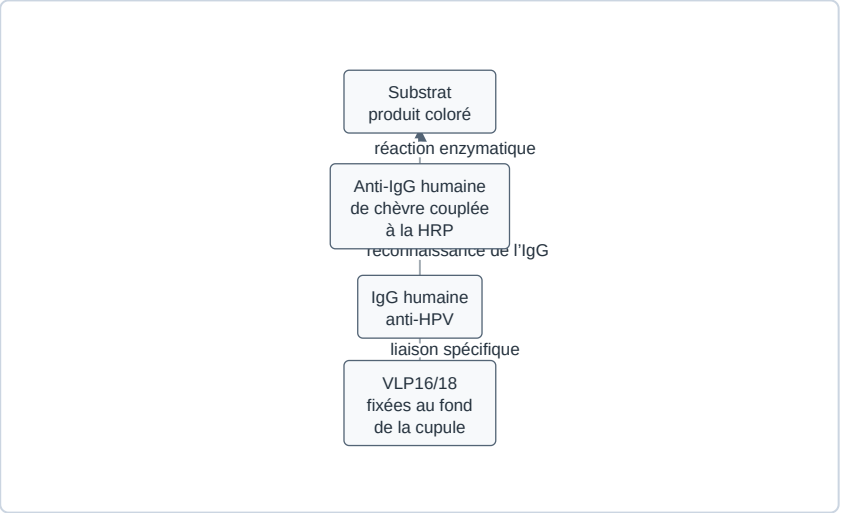
> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Diamètre estimé : environ 50 nm, soit une taille conforme au diamètre attendu pour les virions HPV.

2.5 - Immunogénicité des vaccins bivalent et quadrivalent

Question 2.5.1. Représenter un schéma annoté de l’édifice moléculaire obtenu dans la cupule du contrôle positif lors du dosage ELISA décrit dans le document n° 8.

Dans le contrôle positif, les VLP16/18 sont adsorbées au fond de la cupule. Les IgG anti-HPV du sérum positif se lient spécifiquement aux VLP. Après lavage, le conjugué anti-IgG humaine de chèvre couplé à la peroxydase se fixe aux IgG liées. L’ajout du substrat permet à la HRP de produire une coloration, mesurée par absorbance à 450 nm.

Édifice moléculaire dans le contrôle positif ELISA



La HRP liée au conjugué transforme le substrat en produit coloré.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> VLP16/18 fixées, IgG humaine anti-HPV liée, anti-IgG de chèvre couplée à la HRP, puis substrat transformé en produit coloré.

Question 2.5.2. Indiquer le rôle des contrôles réalisés dans le protocole ELISA et le résultat attendu pour chacun.

Les deux sérums de contrôle vérifient le fonctionnement et la spécificité du dosage :

- Le sérum positif anti-HPV16/18 confirme que les VLP fixées, les anticorps et le conjugué permettent une détection. Une coloration et une absorbance élevée sont attendues.
- Le sérum négatif vérifie l'absence de liaison non spécifique. Il ne doit pas donner de coloration, ou seulement un signal de fond faible.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Contrôle positif : coloration et signal mesurable. Contrôle négatif : absence de coloration spécifique, avec au plus un faible bruit de fond.

Question 2.5.3. Indiquer le rôle d'un adjuvant.

Un adjuvant renforce la réponse immunitaire dirigée contre l'antigène vaccinal. Il peut augmenter l'intensité de la réponse et prolonger la production d'anticorps. Il ne remplace pas l'antigène et n'est pas la cible spécifique des anticorps recherchés. Dans ces vaccins, il accompagne les VLP pour améliorer la réponse à leurs protéines L1.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Un adjuvant amplifie et peut prolonger la réponse immunitaire contre l'antigène vaccinal.

Question 2.5.4. Analyser les résultats présentés dans le document n° 9 et conclure sur l'effet des adjuvants utilisés dans la composition des vaccins bivalent et quadrivalent.

Pour HPV16 comme pour HPV18, les titres d'IgG sont plus élevés avec le vaccin bivalent contenant AS04 qu'avec le vaccin quadrivalent contenant $Al(OH)_3$. L'écart est visible après les injections et persiste pendant le suivi jusqu'à 48 mois. Les deux vaccins induisent des anticorps, mais les résultats associent AS04 à une réponse anti-HPV16 et anti-HPV18 plus importante. Ils ne permettent pas d'attribuer à eux seuls toute différence à l'adjuvant indépendamment de la formulation vaccinale.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Les titres d'IgG anti-HPV16 et anti-HPV18 sont supérieurs avec le vaccin contenant AS04 qu'avec celui contenant $Al(OH)_3$.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2016)

Bilan de l'épreuve : Cette épreuve E3 de BTS Bioanalyses et contrôles, session 2016, code BAE3BC, dure deux heures et a un coefficient 3. Elle étudie les papillomavirus humains, leur cycle et leur génotypage, puis la stratégie vaccinale fondée sur les VLP. Les compétences évaluées couvrent PCR, immunologie, génie génétique, purification, microscopie et dosage ELISA.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- En PCR, la dénaturation, l'hybridation des amorces et l'élongation permettent l'amplification du gène cible.
- Le génotypage par hybridation inverse détecte les amplicons biotinylés fixés aux sondes spécifiques immobilisées sur une bandelette.
- Le gène URA3 permet de sélectionner les levures transformées en les cultivant sur un milieu dépourvu d'uracile.
- En ELISA indirect, les anticorps anti-HPV liés aux VLP sont révélés par un conjugué anti-IgG humaine couplé à la peroxydase.

Points de vigilance & attentes du jury

- Pour valider le génotypage, distinguer les bandes des HPV recherchés des bandes de contrôle interne de la β-globine.
- Lire l'échelle des figures avant d'estimer une taille ou d'interpréter les courbes, et conserver les unités.
- Pour analyser les réponses immunitaires, comparer le délai, l'intensité et la durée après les première et seconde injections.
- Dans l'ELISA, préciser séparément le rôle et le résultat attendu du sérum positif et du sérum négatif.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment déterminer le nombre de copies après plusieurs cycles de PCR ?

En supposant un doublement idéal à chaque cycle, le nombre de copies après n cycles est $N_0 \times 2^n$, où N_0 est le nombre initial de copies. Cette relation suppose une efficacité d'amplification de 100 %.

Q : Comment les contrôles valident-ils un génotypage sur bandelette ?

Le contrôle interne de la β-globine confirme la présence d'ADN amplifiable dans l'échantillon. Les bandes associées aux sondes HPV indiquent les génotypes détectés ; l'absence du contrôle interne rend le résultat non interprétable.

Q : Comment organiser son temps pour cette épreuve de deux heures ?

Les deux parties valent respectivement 17 et 43 points : accorder davantage de temps à la stratégie vaccinale, tout en réservant un temps final à la vérification. Les documents n° 2 et 3 doivent être complétés et rendus avec la copie.

Q : Que faut-il soigner dans les réponses fondées sur des documents ?

Appuyer les conclusions sur des éléments précis des figures, schémas ou protocoles, avec les unités et les comparaisons utiles. Pour les schémas demandés, annoter clairement chaque élément et respecter le document fourni lorsqu'il doit être rendu.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2016/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2016 - 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.